Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

EIN BEITRAG ZUR MORPHOLOGIE DER GERMINOBLASTEN (KEIMZENTRUMSZELLEN) BEI EXPERIMENTELL ERZEUGTER FOLLIKELHYPERPLASIE

UNTERSUCHUNGEN AN LYMPHKNOTEN DES HUNDES

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin

vorgelegt von
Heinz-Jürgen Henning
Tierarzt aus Neuruppin

Berlin 1971
Journal-Nr. 726

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0074

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

EIN BEITRAG ZUR MORPHOLOGIE DER GERMINOBLASTEN (KEIMZENTRUMSZELLEN) BEI EXPERIMENTELL ERZEUGTER FOLLIKELHYPERPLASIE

UNTERSUCHUNGEN AN LYMPHKNOTEN DES HUNDES

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin

vorgelegt von
Heinz-Jürgen Henning
Tierarzt aus Neuruppin

Berlin 1971
Journal-Nr. 726

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. J. Boch
Referent : Prof. Dr. L.F. Müller
Korreferent : Prof. Dr. H. Niepage

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 2. 1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATURÜBERSICHT	2
1. Orte der Lymphozytenbildung	2
2. Entwicklung der Lymphozyten	17
3. Zur Morphologie der Germinoblasten im Ausstrich	20
4. Kernmessungen an Germinoblasten	21
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	23
1. Material	23
2. Methode	23
a) Untersuchung der Lymphknoten	23
b) Versuchsanordnung I	24
c) Versuchsanordnung II	26
d) Versuchsanordnung III	27
e) Karyometrie	35
D. DISKUSSION	40
E. ZUSAMMENFASSUNG	45
F. LITERATURVERZEICHNIS	46

A. EINLEITUNG

Seit Einführung der Zytologie in die klinische Diagnostik haben sich zahlreiche Untersucher neben der Erforschung der zelligen Blutbestandteile und des Knochenmarkes auch den Zellen des lymphatischen Gewebes, insbesondere denen des Lymphknotens gewidmet. Bei Krankheiten, die mit Lymphknotenvergrößerungen einhergehen, kann die intravitale Lymphknotenpunktion mit anschließender zytologischer Untersuchung des Ausstrichmaterials in kürzester Frist wertvolle Hinweise auf die Art des Krankheitsgeschehens geben oder sogar die Diagnose liefern. Unabdingbare Voraussetzung für differenziertes zytodiagnostisches Arbeiten ist eine umfassende Kenntnis der Zellen des Lymphknotens im "ruhenden" Zustand, aber auch bei verschiedenen Reaktionslagen. Während die Literatur der Humanmedizin auf diesem Gebiet kaum noch zu übersehen ist (Übers. u. Lit. bei KLIMA 1952; ANDRÉ u. DREYFUS 1952; BEGEMANN 1953; HORSTER 1953; STREICHER u. SANDKÜHLER 1953; LOPEZ CÁRDOZO 1954; NEUMANN u. FEIGEN 1954; HEILMEYER u. BEGEMANN 1955; LÜDIN 1955; ZACH 1957; LEIBER 1961; LENNERT 1961), sind Publikationen aus der Veterinärmedizin, die sich mit der klinischen Zytologie des Lymphknotens befassen, nicht sehr zahlreich (BLOOM u. Mitarb. 1945; SOVA u. KOMÁREK 1964; BAECKGREN 1965; SQUIRE 1965; BAUER-SIČ 1965; SAAR 1967 a, b; BUSCH 1968; NIEPAGE 1968). Eine umfassendere Übersicht über die Zellen des normalen und veränderten Lymphknotens beim Hunde gibt SAAR (1971).

Die Rolle der Lymphfollikel mit ihren Keimzentren, insbesondere ihre Beteiligung bei der Lymphozytopoese, war lange Zeit umstritten. Sie kann aufgrund neuerer Ergebnisse als geklärt gelten. Für die Spezies Kaninchen (ZETHRAEUS 1948), Ratte (GRUNDMANN 1957, 1958 a,b,c) und Mensch (LENNERT 1957, 1961) sind die Keimzentrumszellen als morphologisch eigenständige lymphozytopoetische Zellrasse beschrieben worden.

Aufgabe dieser Arbeit sollte es sein, an Hand der Literatur einen Überblick über die z.T. sehr unterschiedlichen und wechselnden Auffassungen von der lymphozytenbildenden Funktion der Sekundärfollikel zu geben. Weiterhin sollte am Hund im Experiment eine Proliferation von Keimzentren erzeugt, ihre Zellen morphologisch erfaßt und definiert werden.

B. LITERATURÜBERSICHT

1. Orte der Lymphozytenbildung

Die Fragen nach der Entstehung und Bedeutung der Blutzellen stehen seit Jahrzehnten im Mittelpunkt intensiver Forschungsbemühungen. Während sie für die Erythrozyten und Granulozyten zumindest in ihren Grundlagen als geklärt betrachtet werden können, bleiben gerade bei den Lymphozyten viele Fragen weiterhin offen. Es besteht heute kein Zweifel, daß die Lymphozyten physiologisch im lymphatischen Gewebe - vor allem der Lymphknoten - gebildet werden und daß der stetige Bedarf durch eine kontinuierliche Produktion aus diesem gedeckt wird. Doch schon die Entwicklungsorte im lymphatischen System sind seit Jahrzehnten Gegenstand einer Kontroverse, wie schon die Alternative "Keimzentrum" (FLEMMING 1885) oder "Reaktionszentrum" (HELLMAN 1921) aufzeigt.

Bei der Suche nach den Stellen des lymphatischen Gewebes, an denen die Lymphozytenentwicklung vonstatten geht, war es naheliegend, solche Bezirke heranzuziehen, an denen gehäuft Kernteilungsfiguren auf eine vermehrte Zellbildung hinweisen. Mit Hilfe einer besonderen Fixierungs- und Färbemethode gelang es FLEMMING (1885), innerhalb der "Lymphdrüsen", vor allem in den Rindenfollikeln eine lebhafte Zellteilung nachzuweisen. Obwohl er ganz vereinzelt Lymphozytenmitosen auch außerhalb der Keimzentren beobachtet hatte, kam er zu der Vorstellung, daß die Follikelzentren als "Keimzentren" die wichtigsten Entstehungsorte der Lymphozyten sind. Er war fest davon überzeugt, damit den wichtigsten funktionellen Bestandteil des Lymphknotenparenchyms gefunden zu haben, und seine Befunde bestimmten lange Zeit unangefochten die Ansichten späterer Untersucher.

Durch die Untersuchungen von DOWNEY und WEIDENREICH (1912) wurde die generative Bedeutung der "Keimzentren" FLEMMINGS ebenfalls aufgezeigt. Darüber hinaus konnten sie aber auch an anderen Stellen des lymphatischen Gewebes großzellige

lymphoblastische Formen nachweisen und sahen deshalb in den "Keimzentren" keinesfalls die alleinigen Entstehungsorte der Lymphozyten.

Allmählich wurde immer mehr angezweifelt, ob in den Follikelzentren überhaupt Lymphozyten gebildet werden. So hob vor allem HELLMAN (1921, 1930) die besondere Reaktionsfähigkeit der "Keimzentren" gegenüber den verschiedensten "Reizstoffen" - Bakterien und andere toxische Körper und Stoffe - hervor. Er sah in den sogenannten Keimzentren eine Bindungsstätte für diese infektiös-toxischen Substanzen, bei deren Neutralisation es zu einem ausgedehnten Zerfall der Keimzentrumszellen kommt, die dann anschließend durch gesteigerte Zellvermehrung wieder ersetzt werden. Der Lymphozytenwall, der aus kleinen Lymphozyten besteht und den Follikel umgibt, wurde als Abkapselung des geschädigten und in einen Reizzustand versetzten Keimzentrums aufgefaßt. Damit lehnte HELLMAN die alte Anschauung ab, daß die kleinen Lymphozyten der Randzone von den großen Zellen der Keimzentren abstammen. Außerdem werden nach HELLMAN (1921, 1930) Lymphozyten bereits vor der Geburt gebildet, zu einem Zeitpunkt also, an dem noch gar keine "Keimzentren" bestehen. Der Verfasser nannte sie deshalb "Reaktionszentren". Bei diesen handelt es sich um sehr wandlungsfähige Gebilde, die auch physiologisch "kommen und vergehen" können. Diese Beobachtung wurde von EHRICH (1931) bestätigt, der ebenfalls besonders darauf hinwies, daß ihre Zahl physiologisch und individuell großen Schwankungen unterliegt (vgl. auch FLEMMING 1885; DOWNEY und WEIDENREICH 1912; STERNBERG 1926; MAXIMOW 1927; CONWAY 1937; LEIBER 1961).

Nach Meinung HELLMANS (1926) hat bereits FLEMMING (1885) in die Bezeichnung "Keimzentrum" sowohl das helle Zentrum als auch die oft scharf begrenzte, dunkle Randpartie der Sekundärknötchen einbezogen.

Ein weiterer Gegner der FLEMMINGschen Keimzentrums-Theorie war HEIBERG (1923, 1924, 1924/25), der sich im wesentlichen

die Ansichten HELLMANS (1921) zu eigen machte. Er verwi
besonders auf die Auflösungserscheinungen der meisten
FLEMMINGschen Sekundärknötchen, von denen viele reichlich
Kerntrümmer und Phagozyten enthielten. Da nach seiner Mei-
nung für die Keimzentren bisher lediglich die Vernichtung
von Lymphozyten als erwiesen galt, sprach er von "Leistungs
mittelpunkten". Darüber hinaus vermutete HEIBERG (1924/25)
wie schon HELLMAN (1921) in ihnen die Antikörperproduktion
des lymphatischen Gewebes. Letzterer gelangte später zu-
sammen mit WHITE (1930) zu der festen Überzeugung, daß die
Sekundärknötchen Orte der Antikörperbildung sind, was die
Bezeichnung "Reaktionszentren" durchaus rechtfertigt.

Der Lehre HELLMANS haben sich später zahlreiche Autoren
angeschlossen, für die hier stellvertretend nur GRÉGOIRE
(1931) erwähnt werden soll. Er konnte bei seinen Versuchen
eine Vergrößerung und Vermehrung der Keimzentren nach sub-
kutaner Antigenzufuhr (lebende und abgetötete Keime,
Toxine usw.) feststellen, wobei lokal appliziertes Antigen
auf die regionären Lymphknoten eine deutlich stärkere Wir-
kung ausübte als auf die anderen Körperlymphknoten.

Einer der wenigen profilierten Forscher, die trotz der
HELLMANschen Thesen für die Theorie FLEMMINGS eingetreten
ind, war MAXIMOW (1927). Auch er sah die Keimzentren nicht
bedingt als Voraussetzung für die Lymphozytenregeneration
, da sie beim Embryo und Neugeborenen nicht deutlich ent-
kelt sind. Allerdings zeichnen sie sich durch eine inten-
e und auf ein scharf begrenztes Gebiet beschränkte mito-
he Tätigkeit aus, die im gesamten lymphatischen Gewebe
Gegenstück findet. Die charakteristische scharfe
zwischen dem hellen Keimzentrum und der dunklen
erie - ein gegen die zytopoetische Bedeutung der
tren häufiger angeführtes Kriterium - erklärte
(1927) durch den zentrifugalen Wachstumsdruck, der
zentrum infolge seiner schnellen Vergrößerun
e, vorwiegend aus kleinen Lymphozyt

lymphatische Gewebe ausgeübt wird. Obwohl er die Degeneration und Phagozytose in den Keimzentren für physiologisch hielt, vermerkte er aber das vermehrte Auftreten bei verschiedenen Infektionskrankheiten und lokalen Schädigungen. Doch auch MAXIMOW (1927) konnte schließlich keine weiteren Beweise für die FLEMMINGsche Theorie erbringen, die sich eigentlich nur auf die Anwesenheit der oft zahlreichen Mitosen stützt.

Sehr eindrucksvoll waren die Befunde von EHRICH (1931), der bei experimenteller Anregung der Lymphozytenbildung durch Staphylokokkenvakzine, Terpentinöl und andere Substanzen außer in den Follikelzentren auch an den Marksträngen der Lymphknoten lymphoblastische Zellen, gemeinsam mit vielen Kernteilungsfiguren, nachweisen konnte. Er war der Meinung, daß in den FLEMMINGschen Sekundärknötchen die Lymphozytopoese nur bis zur Ausbildung von mittelgroßen Lymphozyten reicht, die dort für unbestimmte Zeit liegen bleiben. Ein Teil davon zerfällt, und die Zerfallsprodukte stellen nach Auffassung EHRICHS (1931) die "tingiblen Körperchen" FLEMMINGS dar, eine Auffassung, die vorher schon von HELLMAN (1921, 1930) und MAXIMOW (1927) vertreten wurde. Der andere Teil bildet durch Mitose sogar noch neue große und mittelgroße Lymphozyten, die normalerweise einer "regressiven Umwandlung" anheimfallen. Hierbei könnte es sich vielleicht um besondere mittelgroße Lymphozyten mit einer besonderen Funktion handeln, die nur nebenbei die Fähigkeit besitzen, kleine Lymphozyten zu bilden, und zwar dann, wenn ein neuer entsprechender Reiz die FLEMMINGschen Sekundärknötchen trifft. Diese Hypothese fand eine schöne Bestätigung durch die neueren immunologischen Erkenntnisse (LENNERT 1966; CONGDON und HANNA jr. 1967). Die "Übergangssekundärknötchen", die sich aus den Keimzentren entwickeln, stellen nach Meinung EHRICHS (1931) die Auflösungsphase der FLEMMINGschen Sekundärknötchen dar.

Derselbe Verfasser konnte die Beobachtung HELLMANS über die Diskrepanz zwischen FLEMMINGschen Sekundärknötchen und Blutlymphozyten im Experiment bestätigen. Dabei kam es zunächst infolge starker Reizung zu einer den ganzen Lymphknoten ausfüllenden, diffusen lymphoiden Hyperplasie, die mit einer Lymphozytenvermehrung im Blut verbunden war. Aktive Keimzentren bildeten sich erst, wenn die Lymphozytenemigration bereits ihren Höhepunkt erreicht hatte, und sie blieben bis 14 Tage nach den Gipfeln der Lymphozytenvermehrung im Blut erhalten. EHRICH schloß daraus, daß bei der Richtigkeit der FLEMMINGschen Theorie die größte Lymphozytenauswanderung und die stärkste Vermehrung der Blutlymphozyten 14 Tage später hätte stattfinden müssen. Auch schien ihm "der Anteil der FLEMMINGschen Sekundärknötchen an der Lymphozytenemigration ein rein mechanischer zu sein, indem die wachsenden Knötchen die Auswanderung der umherliegenden Lymphozyten durch Verdrängung förderten".

Aus diesen Gründen lehnte EHRICH (1931) die Auffassung FLEMMINGS (1885) ab, der die Keimzentren als ständig kleine Lymphozyten produzierende Orte verstand, und nannte die FLEMMINGschen Sekundärknötchen "Reservedepots" großer und mittelgroßer Lymphozyten, die hier bei der Regeneration im Überschuß gebildet werden.

Auch v. ALBERTINI (1932) hielt die FLEMMINGsche Theorie aufgrund des von ihm durchgeführten Regenerationsversuches für widerlegt. Er fand nach Röntgenbestrahlung eine diffuse schwere Zerstörung des gesamten lymphatischen Gewebes. Schon nach sechs Stunden konnte er überall, am häufigsten aber im lymphatischen Grundgewebe, verstreut große Lymphozyten vermehrt feststellen. Die weiteren Beobachtungen zeigten nach 90 Stunden ein diffus ausgebreitetes lymphoblastisches Gewebe, das sowohl in den Zentren als auch im lymphatischen Grundgewebe eine sehr lebhafte lymphatische Regeneration erkennen ließ. Damit war es ihm gelungen, eine von den FLEMMINGschen Zentren unabhängige Regeneration des lymphatischen Grundgewebes nachzuweisen.

Wie v. ALBERTINI (1936) in seiner Übersicht betonte, lassen sich im lymphatischen Grundgewebe gewöhnlich nur ganz vereinzelt Lymphoblasten und Mitosen nachweisen. Dies erklärt auch, warum die physiologische Regeneration kaum sichtbar wird. Da nach seiner Auffassung auch die "Verbrauchslymphozyten in Blut und Lymphe" dem lymphatischen Grundgewebe entstammen, bezweifelte er stark die zentrale Bedeutung der verschiedenen Stadien der wechselnd aussehenden FLEMMINGschen Zentren. Für ihn stellen sie Sonderstrukturen des lymphatischen Grundgewebes dar, deren Aufgabe noch recht unklar ist.

Besonders bedeutungsvoll schien v. ALBERTINI (1932) die Beobachtung, daß durch die diffus angreifenden Röntgenstrahlen eine diffuse Schädigung sowohl des lymphatischen Grundgewebes als auch der Follikelzentren eintritt, während hämatogen einwirkende karyoklastische Gifte lediglich eine lokalisierte Zentrumsschädigung zur Folge haben. Deshalb bezeichnete er die FLEMMINGschen Zentren als "Giftschutzzentren", deren Bedeutung in ihrer Filtrationsfähigkeit gegenüber hämatogen einwirkenden Giften und Toxinen begründet liegt. Im Gegensatz zu HELLMAN (1921) sah er in den reaktiven Vorgängen in den Sekundärfollikeln keine ganzheitsbezogene Funktion, sondern hielt den Schutz des umgebenden lymphatischen Gewebes vor hämatogen einwirkenden Noxen für ihre Hauptfunktion. Die Regeneration in den "Keimzentren" war für v. ALBERTINI demnach auch nur eine örtlich begrenzte Reaktion auf den Zelluntergang an dieser Stelle.

Als weiterer Beweis gegen die FLEMMINGsche Theorie fand ein experimenteller Beitrag GLIMSTEDTS (1936) großes Interesse. Es gelang ihm, Meerschweinchen keimfrei aufzuziehen. Bei diesen steril aufgezogenen Tieren blieb die Bildung von Keimzentren im gesamten lymphatischen Gewebe aus, während sie bei den Kontrolltieren, die allen normalen äußeren Umwelteinflüssen - d.h. bakteriellen und bakterio-toxischen Einwirkungen - ausgesetzt waren, in großer Zahl zu finden waren.

Schon die bisherige Übersicht macht deutlich, daß es bei dem durch FLEMMING (1885) ausgelösten Streit vorwiegend um die Frage ging, ob in den "Zentren" junge Zellen, insbesondere junge Lymphozyten gebildet werden oder ob sie als morphologischer Ausdruck einer bestimmten Abwehrfunktion der Lymphknoten aufzufassen sind. Es gab verschiedene Autoren, die einen vermittelnden Standpunkt zwischen diesen beiden konträren Meinungen eingenommen und Kompromißdeutungen gegeben haben.

So hielt ASCHOFF (1926) die Follikel weder für ein ausschließliches Keim- noch für ein ausschließliches Schutzgewebe gegen infektiös-toxische Substanzen, sondern für ein besonders jugendliches lymphatisches Gewebe, das auf jede Reizung hin in lebhafte Wucherung gerät. Seiner Meinung nach wäre die Bildung einer besonderen Art von Lymphozyten in den Keimzentren durchaus denkbar.

STERNBERG (1926) beschrieb die Keimzentren gleichfalls als wechselvolle, veränderliche Gebilde der Lymphknoten und schloß eine unterschiedliche Funktion derselben zu verschiedenen Zeiten oder in verschiedenen Entwicklungsstadien nicht aus. Er hielt die Keimzentren weiterhin für eine Bildungsstätte von Lymphozyten, sofern im Inneren der Follikel Lymphoblasten vorhanden sind.

Folgendes glaubte JECKELN (1933) mit Sicherheit über die Keimzentren aussagen zu können: echte FLEMMINGsche Keimzentren entstehen aufgrund mäßiger, nicht hoch dosierter Reize und haben stets die Fähigkeit, aus Lymphoblasten Lymphozyten zu bilden. Keinesfalls stellen sie die alleinigen und auch nicht die hauptsächlichsten Bildungsstätten der Lymphozyten dar. Durch das die Keimzentren wie ein Gitter umschließende Stützfasergerüst, welches druckmechanisch bedingt ist, werden sie an der Lymphozytenbildung gehindert. Ein geringer Kernzerfall ist der Ausdruck dieser ohne Ausfuhrmöglichkeit vorsichgehenden Lymphozytenproduktion. Infolge von Spannungsänderungen lockert sich das Maschenwerk des "Stützfaserkäfigs" oder reißt an einer

Stelle ein, und es kommt dann zur Umwandlung von Lymphoblasten in Lymphozyten. Daran schließt sich dann die vorwiegend sinuswärts gerichtete amöboide Wanderung der Lymphozyten an.
Als Gründe für die besondere Lokalisation des Kernzerfalls in den Keimzentren nannte er einmal eine besondere Empfindlichkeit der dort vorkommenden Zellen, und zum anderen hielt er eine spezielle Gefäßversorgung, die eine besonders gute Zufuhr der schädigenden Substanzen erlaubt, nicht für unmöglich.

CONWAY (1937) bemühte sich ebenfalls, die einander widersprechenden Theorien von FLEMMING (1885) und HELLMAN (1921, 1930) zu kombinieren. Die unterschiedlichen Meinungen führte er auf Beobachtungen der Zentren während verschiedener zyklischer Phasen zurück. Weiterhin hielt er die verschiedenen Aussagen für Beschreibungen der Lymphknoten normaler und durch Antigen stimulierter Tiere.

Durch ihre autoradiographischen Untersuchungen kamen auch YOFFEY und Mitarbeiter (1961) und KOBURG (1964) zu der Auffassung, daß die Verschiedenheit der zytogenetischen Aktivität der einzelnen Follikel im nicht gereizten Lymphknoten als zeitliche Schwankungen gedeutet werden können. Sie fanden nämlich neben sehr aktiven Zentren andere, die gegenüber den ersteren keine morphologischen Unterschiede aufwiesen, aber nur wenige markierte Zellen enthielten.

Zu einer gewissen Übereinstimmung mit CONWAY (1937) gelangten auch KINGERTZ und ADAMSON (1950), als sie die verschiedenartige Morphologie der Keimzentren, die während ihrer Versuche bei unbehandelten Kontrolltieren in unterschiedlich großer Zahl in der Peripherie der Lymphknotenrinde auftraten, als Spiegel eines Lebenszyklus deuteten.
Bei den behandelten Versuchstieren (Meerschweinchen), denen während eines Monats wiederholt lebende oder abgetötete Bakterien (Streptokokken, Staphylokokken, Pneumokokken, Colibazillen) oder ihre Toxine injiziert wurden, konnten

sie zwei unterschiedliche Phasen der lymphatischen Gewebsreaktion feststellen. Die erste Phase äußerte sich in einer diffusen Hyperplasie des Rindengewebes schon am ersten und zweiten Versuchstag und erreichte ihren Höhepunkt mit dem Ausstoß reifer Lymphozyten aus dem Lymphknoten. Die zweite Phase ist die sogenannte Zentrumsreaktion, bei der sie

a) das durch die Neubildung von unreifen Lymphozyten gekennzeichnete Frühstadium,
b) das hochaktive Stadium mit lebhafter Neubildung, aber auch zellulärer Desintegration und Phagozytose und
c) das Endstadium mit dem Abklingen dieser Vorgänge unterschieden.

Etwa einen Monat nach der letzten Injektion erschienen dann wieder Zentren, die denen der unbehandelten Kontrolltiere ähnelten. Die heftigste Keimzentrumsreaktion konnten sie nach Injektion von Antigen in Bouillonkultur feststellen. Geringer fiel sie bei der Verimpfung lebender Bakterien in Kochsalzlösung aus und deutlich schwächer bei reiner Vakzine. Aufgrund ihrer Untersuchungen sahen RINGERTZ und ADAMSON (1950) die Hauptfunktion der Lymphknotenzentren in der Zellneubildung. Das Phänomen des Zelluntergangs und der daraus resultierenden Phagozytose, die bei den aktiven Keimzentrumstypen zu beobachten war, werteten sie entweder als Resultat einer intensiven Zellproliferation oder einer toxischen Zellschädigung.
Abschließend stellten die Verfasser folgende Hypothese zur Diskussion: falls der unreife Lymphozyt die Stammzelle der Plasmazelle ist, müßte man den Zentren zumindest eine indirekte Rolle bei der Antikörperbildung einräumen. Diese besteht in der Bildung einer großen Anzahl unreifer Lymphozyten, die unter Antigeneinfluß in antikörperbildende Plasmazellen umgewandelt werden können, anstatt sich, wie es normalerweise geschieht, in reife Lymphozyten umzuwandeln.

Doch auch diese Untersuchungen konnten die Unklarheiten über die Lymphozytenbildung nicht beseitigen. So zweifelte

auch noch EHRICH in seiner 1956 gegebenen großen Übersicht die Keimzentren als Hauptorte der Lymphozytopoese an, wenngleich er sie als Orte lebhafter Neubildung lymphoider Zellen anerkannte. Er hielt es für "kaum denkbar, daß die Bildung von Keimzentren - nach Antigenstimulation - gesteigerte Lymphopoese bedeutet, da einmal die Reizwirkung zu Anfang sicher stärker ist als in der zweiten Woche, und zum anderen die Keimzentren erst dann auftreten, wenn die Lymphozytopoese ihren Höhepunkt erreicht oder bereits überschritten hat".

Neue Aspekte ergaben sich dann allerdings durch die eingehenden zytologischen Untersuchungen GRUNDMANNS (1957, 1958 a, b, c), dem es gelang, im normalen lymphatischen Gewebe junger Albinoratten zwei verschiedene Lymphozytentypen nachzuweisen, die sich in der Struktur des Kernchromatins voneinander unterscheiden.

Der Verfasser unterschied zwischen Follikel- und Sinus-Lymphozyten. Der erste Lymphozytentyp kommt in den Follikeln vor und wird dort auch gebildet. Die Lymphozyten vom Sinustyp stellen die Mehrzahl aller Zellen in den Sinus der Milz und der Lymphknoten dar. Beide Lymphozytentypen besitzen fünf eigene morphologisch definierte Vorstufen.

Diese zytomorphologische und histotopographische Gliederung in zwei verschiedene Lymphozytensysteme konnte GRUNDMANN (1958 b, c) auch durch unterschiedliche Reaktionsweise des lymphatischen Gewebes nach experimentell gesteuerter Einwirkung bestätigen. Unter Cortison reagierten beide lymphozytopoetischen Reihen in gleicher Weise, aber mit verschiedener Intensität, unter Desoxycorticosteronacetat (DOCA) - nach beidseitiger Adrenalektomie - gegensinnig, und bei einem entzündlichen Reiz nacheinander. Auch durch phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen konnte GRUNDMANN (1959 a) die Berechtigung zur Differenzierung der Lymphozyten in einen Sinus- und einen Follikeltyp erhärten.

In weiteren Arbeiten konnte der Autor (1959 b, 1961) diese Gliederung der Lymphozyten auch beim Menschen nachweisen.

Gleichzeitig stellte er fest, daß die Follikellymphozyten beim Menschen ca. 70 - 80% der Blutlymphozyten ausmachen, während die Sinuslymphozyten nur zu 5 - 20% im peripheren Blut vorkommen. Aufgrund dieser Befunde galt zu diesem Zeitpunkt die Lymphozytenbildung im gesamten lymphoretikulären Gewebe - einschließlich der Follikel - als sicher.

Durch Kombination der Färbung von STÖCKINGER und KELLNER (1952) und der PAS-Reaktion gelang auch BEGEMANN und Mitarbeitern (1963) eine deutliche Differenzierung der beiden Lymphozytentypen. Während sie beim Gesunden ein konstantes Verhältnis beider Lymphozytenformen feststellten, sahen sie im Verlauf bakterieller und viraler Infektionen, sowie bei lymphatischen Systemerkrankungen differentialdiagnostisch verwertbare eindeutige Verschiebungen.

Bereits 1954 hatte OTTESEN mit Hilfe von radioaktiven Isotopen zwei Gruppen von Lymphozyten nachgewiesen, von denen etwa 5 - 20% eine mittlere Lebensdauer von 2 - 4 Tagen und weitere 80 - 90% eine mittlere Lebensdauer von 100 - 200 Tagen hatten. Auch EVERETT und Mitarbeiter (1964 a, b) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen von FRIESS (1969) wiesen ebenfalls auf die Eigenständigkeit von Follikel- und Sinuslymphozyten hin.

Gerade in den angloamerikanischen Ländern hielt man die lymphopoetische Tätigkeit der Keimzentren immer für wahrscheinlich. Wenn auch YOFFEY, HANKS und KELLY (1958) die Keimzentren für die Lymphozytenbildung als nicht unbedingt nötig erachteten, so vertraten sie doch die Auffassung, daß in den Keimzentren mehr Lymphozyten gebildet werden als im gesamten anderen lymphoiden Gewebe. Außerdem hielten sie qualitative Unterschiede zwischen den Lymphozyten der Keimzentren und denen des übrigen lymphatischen Gewebes für möglich.

In seiner großen Übersicht unterschied auch LENNERT (1961) zwei lymphopoetische Systeme im Lymphknoten. Die eine ist die lymphopoetische Reihe der Follikel mit dem Keimzentrum

als Proliferationsmittelpunkt, die andere ist die des diffusen lymphoiden Gewebes, das er - wie viele andere Autoren - als Pulpa bezeichnet. Die GRUNDMANNschen "Sinuslymphozyten" bezeichnet er dementsprechend als "Pulpalymphozyten". In seiner Übersicht hielt LENNERT (1961) eine rege Neubildung mobiler Zellen in den Follikelzentren für erwiesen und sah damit den jahrzehntelangen Streit um den Begriff "Keimzentrum" oder "Reaktionszentrum" für entschieden an zugunsten von FLEMMING (1885). Die Zentren der Sekundärknötchen sind also vorwiegend Keimzentren, auch wenn die Bedeutung der "tingiblen Körperchen" noch unklar blieb. Die Bezeichnung "Reaktionszentrum" (HELLMAN 1921) blieb davon unberührt, da dieses "Keimen" von Lymphozytenvorstufen wahrscheinlich gleichzeitig "Reaktion" auf einen lymphopoetischen Reiz ist. LENNERT (1961, 1966) sah also keine Veranlassung, den alten Begriff Keimzentrum aufzugeben.
Abschließend ließ er noch die Frage anklingen, ob die Neubildung von Follikellymphozyten einen Zusammenhang mit der Antikörperbildung erkennen läßt. Dabei verwies er besonders auf Experimente von ORTEGA und MELLORS (1957), denen es mit Hilfe fluoreszierender Antikörper gelang, im Plasma (oder in der Umgebung?) von Keimzentrumszellen und Plasmazellen - nicht aber in den restlichen Zellen des Lymphknotens - die Existenz von γ-Globulinen nachzuweisen.

In jüngerer Zeit haben besonders Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen vermehrt Eingang in die Lymphozytopoese-Forschung gefunden. Mit Hilfe dieser autoradiographischen Methode kann z.B. nach Gabe von H^3-Thymidin die Bildung neuer Zellen lokalisiert und auch die Neubildungsrate innerhalb eines Gewebes genau bestimmt werden. Dazu sei hier nur kurz erwähnt, daß H^3-Thymidin schnell und spezifisch in d i e DNS eingebaut wird, die vor der Mitose synthetisiert wird. Thymidin aufnehmende Zellen sind daher wachsende Zellen, die sich später teilen werden. Durch zeitliche Änderung der Versuchsdauer können auch Zellwanderungen verfolgt werden.

HINRICHSEN (1962) sah bereits eine Stunde nach einmaliger Injektion von H^3-Thymidin eine starke Beladung der Zellkerne in den Reaktionszentren von Lymphfollikeln, während im Lymphozytenwall nur vereinzelte Zellen markiert waren. Auch nach zweimaliger Injektion war keine Veränderung dieser Verteilung zu bemerken. Mit der Verlängerung des Zeitraumes zwischen der Injektion und Tötung des Tieres war eine geringfügige Zunahme markierter Zellen im Lymphozytenwall zu beobachten. Die Zellmarkierung im Lymphozytenwall nahm aber nicht in dem Maße zu wie sie sich in den Follikelzentren verminderte.

Aus seinen Beobachtungen schloß HINRICHSEN (1962) auf äußerst rege Zellvermehrung in den Follikelzentren. Nur ein kleiner Teil der neugebildeten Zellen wandert aus dem Zentrum in den Lymphozytenwall ab, der größte Teil geht in die Lymphbahnen über. Damit lehnte der Verfasser die Follikelzentren als bevorzugte Orte reaktiver Vorgänge ortsgebundener Zellen ab, hielt aber die hohe mitotische Aktivität möglicherweise selbst für eine Reaktion, so daß man die Zentren vielleicht als "reaktive Keimzentren" bezeichnen könnte (vgl. auch GRUNDMANN 1957, 1958 b; LENNERT 1961,1966).

Wie schon HINRICHSEN (1962) konnten auch FLIEDNER und Mitarbeiter (1964) durch autoradiographische Studien zeigen, daß die rege Zellvermehrung in den Keimzentren kaum zur Bildung des Lymphozytenwalles beiträgt. Es käme also für die Entstehung des Lymphozytenwalles nur eine Zellneubildung in diesem selbst oder eine Zelleinwanderung in Frage. Da die Zellen des Walles kaum H^3-Thymidin aufnehmen (HINRICHSEN 1962; FLIEDNER u. Mitarb. 1964; HINRICHSEN u. PRINDULL 1966), erscheint die Zellneubildung am Ort unwahrscheinlich.

FLIEDNER und Mitarbeiter (1964) sahen weiterhin zahlreiche markierte tingible Körperchen in den Makrophagen der hellen Zentren und schlossen auf einen beträchtlichen Zellabbau in den hellen Zentren. Die Zellen des Lymphozytenwalles hielten die Autoren aufgrund ihrer Untersuchungen für den Teil

eines "Vorratstümpels" für Lymphozyten mit recht langsamer Proliferationsrate.

Die Untersuchungen von HINRICHSEN und PRINDULL (1966) wiesen gleichfalls einen auf die Keimzentren begrenzten Kernzerfall nach. Allerdings fanden sie, daß die Absterberate der Zellen im Zentrum von Sekundärknötchen nicht größer war als in anderen lymphatischen Organen. Mit 20 : 100 war das Zahlenverhältnis der tingiblen Körperchen zu den intakten Zellen nahezu konstant. Obwohl sie keine Überwanderung von Keimzentrumszellen in den Lymphozytenwall nachweisen konnten, sahen sie im Gegensatz zu FLIEDNER und Mitarbeitern (1964) das normale Schicksal dieser Zellen nicht im Zelluntergang am Ort, sondern hielten sie für mobile Zellen, die in den Follikelzentren gebildet und anschließend rasch ausgeschleust werden. Wie diese Ausschleusung vonstatten geht wird nicht erläutert (vgl. auch HINRICHSEN 1962).
Während durch die vielbeachteten autoradiographischen Untersuchungen von FLIEDNER und Mitarbeitern (1964), wie auch von HINRICHSEN (1962) und HINRICHSEN und PRINDULL (1966) die Vorstellung HELLMANS (1921, 1930) erneut eine scheinbare Stütze erhielt, erlangte das "Keimzentrum" als Ort der Lymphozytenbildung durch die experimentellen Untersuchungen KOBURGS (1963, 1964, 1965) wiederum große Bedeutung.

Im Gegensatz zu FLIEDNER und Mitarbeitern (1964) wählte KOBURG (1963, 1964, 1965) die Tonsille des Kaninchens als Untersuchungsobjekt. Schon eine Stunde nach Gabe von H^3-Thymidin trat eine Markierung der basalen Keimzentrumsabschnitte auf, die wenige Stunden später auf die kappennahen Keimzentrumsteile und endlich auch auf die Kappe übergriffen. Besonders signifikant war der Zuwachs an markierten kleinen Lymphozyten in der Lymphozytenkappe (entspricht dem peripheren Lymphozytenwall der Follikel) zwischen der 24. und 48. Stunde p.i. (von 10% auf 55%). Nach 72 Stunden waren rund 40% aller kleinen Lymphozyten markiert.
Diese Untersuchungen an den Tonsillen bestätigten die Be-

funde, die KOBURG schon 1963 an Sekundärfollikeln von Halslymphknoten des Kaninchens erhoben hatte. Nachdem auch hier bei kurzer Versuchsdauer (eine Stunde) keine kleinen Lymphozyten markiert waren, nahm ihre Zahl vor allem nach 24 - 48 Stunden innerhalb des Lymphozytenwalles stark zu.
Indem KOBURG (1965) die Versuchsanordnung verschiedentlich änderte (H^3-Thymidin-Injektion in Verbindung mit Colchizin-Injektionen, H^3-Thymidin-Injektion in die A. carotis nur einer Seite, Injektion markierter Lymphozyten und Beobachtung dieser in den Tonsillen), meinte er genügend Beweise dafür erbracht zu haben, daß die Keimzentren - zumindest der Kaninchentonsillen - "echte Keimzentren" sind, und die dort neugebildeten Zellen in die Lymphozytenkappen abwandern.

Die Untersuchungsergebnisse KOBURGS deckten sich weitgehend mit denen von YOFFEY und Mitarbeitern (1961) an anderen Lymphgeweben von Meerschweinchen. Diese Forscher konnten ebenfalls eine weitverbreitete DNS-Synthese in den hellen Follikelzentren und die Wanderung dieser Zellen von den Keimzentren bis zur Lymphozytenmasse nachweisen. Folgerichtig sprachen auch diese Autoren sich für eine starke Zellproliferation dieser Zentren im Sinne FLEMMINGS (1885) aus. Den von FLIEDNER und Mitarbeitern (1964) in den Zentren der Rattenmilz beobachteten Zelluntergang neugebildeter Zellen konnte KOBURG (1964, 1965) für die Kaninchenmilz bestätigen, wo sich Zellneubildung und Zelluntergang unter Umständen die Waage halten können. Möglicherweise ist die unterschiedliche Lokalisation des lymphatischen Gewebes (Milz bzw. Tonsille) für die Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen von FLIEDNER und Mitarbeitern (1964) und KOBURG (1964, 1965) von Bedeutung. Hinweise darauf ergaben sich vor allem aus den Studien von GOOD und Mitarbeitern (1965), die einige neue Gesichtspunkte über die Orte der Lymphozytopoese erbrachten. Die Autoren sahen den Thymus und die Bursa fabricii des Huhnes als zentrale Bildungsstätten der Lymphozyten an. Von diesen Orten ausgehend erfolgt die Auswanderung von Lymphozyten in Richtung anderer lymphatischer Or-

gane wie Milz oder peripherer Knoten, die später den Großteil der Lymphozytenproduktion übernehmen. Die Stellung der Bursa fabricii als "zentrales" lymphatisches Organ könnte nach LENNERT (1966) beim Menschen und anderen Säugetieren von der Tonsille eingenommen werden, während die Milz hinsichtlich ihrer poetischen Aktivität zu den "peripheren" lymphatischen Organen zu rechnen ist.

Schon MILLER und DUKOR (1964) hatten auf die zentrale Stellung des Thymus innerhalb der lymphatischen Organe hingewiesen und ihn als "Schrittmacher des lymphatischen Apparates" bezeichnet. Auch LENNERT (1966) sah im Vorhandensein des Thymus eine unerläßliche Voraussetzung für eine regelrechte Entwicklung lymphatischer Organe. Diese Auffassung konnte u.a. durch die Untersuchungen KÖBBERLINGS (1965) und GRUNDMANN u. HOBIKS (1967) bestätigt werden (vgl. auch HABERMEHL 1969).

Obwohl die Bezeichnung "Keimzentrum" anscheinend auch heute noch ihre Berechtigung hat - zumindest für bestimmte lymphatische Gewebe - wurden gerade in den letzten Jahren die Zusammenhänge zum immunologischen Geschehen immer deutlicher. Dabei gelangte man allgemein zu der Vorstellung, daß die Keimzentren nach einer ersten Antigen-Berührung die "memory cells" der zentralen Immunvorgänge bilden, die sich bei der zweiten Antigenreizung in großer Zahl in antikörperbildende Zellen umwandeln. CONDON und HANNA jr. (1967) hielten die Keimzentren für die wichtigsten Stellen der zentralen Immunvorgänge im lymphatischen Gewebe. Es erschien ihnen auch denkbar, daß die primären Erkrankungen des Lymphgewebes als Erkrankungen der Keimzentren zu verstehen sind.

2. Entwicklung der Lymphozyten

Da die Literatur zur Lymphozytopoese sehr umfangreich geworden ist, sind folgende Übersichtsarbeiten von besonderem

Interesse: LENNERT (1961, 1964 u. 1966), LEIBER (1961), GRUNDMANN (1958 a, b), YOFFEY (1964), HEILMEYER und BEGEMANN (1955), STREICHER und SANDKÜHLER (1953). Um jeglichen nomenklatorischen Unklarheiten zu begegnen, hat im Rahmen dieser Arbeit die Nomenklatur nach LENNERT (1961) Verwendung gefunden, falls nicht gesondert auf Abweichungen davon hingewiesen wird.

Die Bildungsstätte der Lymphozyten ist das lymphatische Gewebe. Die Lymphozytenbildung im Lymphknoten, die für die Sekundärknötchen immer wieder in Frage gestellt wurde, ist durch vielfache Experimente eindeutig bewiesen (MASSHOFF 1960; LEIBER 1961).

Die Entwicklungsreihe der Lymphozyten wird nach der klassischen morphologischen Anschauung wie folgt angegeben: als eigentliche Ursprungsformen der Lymphozyten, d.h. als früheste in Richtung auf den Lymphozyten determinierte Zelle gilt die basophile Stammzelle, die wiederum aus der undifferenzierten Retikulumzelle hervorgeht. Durch fortlaufende Teilungen - nach GRUNDMANN fünf - nimmt die intensive Zytoplasmabasophilie allmählich ab, wobei die Stadien des Lymphoblasten und des jungen (großen) bis hin zum alten (kleinen, reifen) Lymphozyten durchlaufen werden. Während größere Vorstufen der Pulpalymphozytopoese nur sehr selten zu beobachten sind (GRUNDMANN 1959 b; SAAR 1971), treten diese bei der Follikellymphozytopoese deutlich und in großer Zahl in Erscheinung. LENNERT (1957, 1961) bezeichnet diese Zellen als große, mittlere und kleine Germinoblasten. Möglicherweise besteht hier ein Zusammenhang mit der Lebensdauer der Zellen, die für die Pulpalymphozyten wesentlich länger als für die Follikellymphozyten angegeben wird (GRUNDMANN 1959 b, 1961, vgl. auch OTTESEN 1954).

MASSHOFF und Mitarbeiter (1954, 1958, 1960, 1967) lehnen nach Untersuchung reaktiver Lymphknotenprozesse eine derart determinierte Entwicklungsreihe ab oder schränken sie zumindest ein. Sie sehen in der Zwischenstufe der kleinen Retikulumzelle eine "durch besondere Reaktionsfähigkeit aus-

gezeichnete Matrixzelle im lymphatischen Gewebe", aus der durch "accidentelle Cytopoese" unmittelbar junge und alte Lymphozyten sowie Plasmazellen hervorgehen können.
Der alte (kleine, reife) Lymphozyt war für viele Jahre Ausgangspunkt einer der heftigsten hämatologischen Streitigkeiten. Es ging dabei um die Frage, ob der kleine Lymphozyt eine reife Endzelle ohne weitere Wachstumsfähigkeit ist. YOFFEY (1964) versuchte einen Ausgleich zwischen diesen gegensätzlichen Standpunkten zu schaffen, indem er für die kleinen Lymphozyten eine aktive und eine inaktive Phase annahm. Da die inaktive Phase von langer Dauer sein kann, ist es häufig die einzige Phase, die bei Beobachtungen wahrzunehmen ist.
Erst in neuester Zeit konnte durch die Entdeckung des Phytohämagglutinineffektes der Beweis für die Evolutionsfähigkeit der kleinen Lymphozyten erbracht werden (LENNERT 1966; FISCHER u. GROPP 1964; GROPP u. FISCHER 1964). Da der kleine Lymphozyt bisher als endgültig differenzierte Zelle angesehen wurde, kam dieser Entdeckung umwälzende Bedeutung zu. Die schon 1909 von MAXIMOW und 1912 von DOWNEY und WEIDENREICH vertretene Auffassung, daß sich kleine Lymphozyten in große Lymphozyten umwandeln oder rückentwickeln können, fand dadurch eine späte Bestätigung.
In Blutzellkulturen konnte unter dem Einfluß von Phytohämagglutinin (PHA) die Umwandlung von kleinen Lymphozyten in Zellen beobachtet werden, die vollkommen isomorph sind mit basophilen Stammzellen. Es bleibt aber immer noch die Frage zu klären, ob aus dieser Isomorphie für die basophilen Stammzellen des Lymphknotens eine Entstehung aus kleinen Lymphozyten abgeleitet werden darf. Auf jeden Fall ist durch die Entdeckung des PHA-Effektes die als geklärt geltende Entwicklungsreihe der Lymphozyten wieder in Frage gestellt worden. Auch die Auffassung KLIMAS (1952) gewinnt wieder an Aktualität, der die basophile Stammzelle und die Germinoblasten als großkernige Reaktionsformen der Lymphozyten versteht.

3. Zur Morphologie der Germinoblasten im Ausstrich

Auf die morphologische Eigenständigkeit der basophilen Keimzentrumszellen wurde erstmalig von MORALES PLEGUEZUELO und JIMÉNEZ DIAZ (1945) an Hand von Ausstrichpräparaten hingewiesen, die vom großfollikulären Lymphoblastom stammten. Auch MOESCHLIN (1947) beschrieb diese Zellen, die er aufgrund morphologischer Kriterien als typisch für die Keimzentren der Lymphknoten und der Milz ansah, weil sie immer dann zu finden waren, wenn gleichzeitig Keimzentren vorhanden waren, als wenig differenzierte, jugendliche Zellen mit schmalem, oft etwas unregelmäßig abgegrenztem, dunkelblauem Zytoplasma und einem großen, runden bis leicht ovalen Kern mit feinem Chromatingerüst und 3 - 5 großen hellen Nukleolen. Die größeren Formen (großer Germinoblast und basophile Stammzelle nach LENNERT) nannte er "große lymphatische Retikulumzellen" (s. auch BEGEMANN 1953). Durch die sehr diffizilen Untersuchungen von ZETHRAEUS (1948) konnte die im Vergleich zu anderen Lymphknotenzellen besondere Morphologie der Keimzentrumszellen sicher belegt werden. Mit Hilfe einer Mikromethode gelang es ihm, die "Sekundärknötchen" der Lymphknoten von Kaninchen isoliert zu entnehmen. In den aus diesem Material hergestellten Ausstrichen konnte er eine besondere Zellform, die er als R-Zellen bezeichnete und die im lymphatischen Gewebe sonst nicht zu finden waren, feststellen. Diese Zellen unterschieden sich von anderen Lymphknotenzellen, den O-Zellen, durch eine blassere Chromatinanfärbung.

LENNERT (1957) konnte in pathologisch veränderten Lymphknoten des Menschen Zellen ("Germinoblasten") nachweisen, die den R-Zellen von ZETHRAEUS und auch den von HEILMEYER und BEGEMANN (1955) als Keimzentrumszellen und von GRÜNDLER (1957, 1958 a, b, c) als lymphoblastische Stammzellen vom Follikeltyp bezeichneten Formen entsprachen. LENNERT (1961) sowie LEIBER (1961) kennzeichneten die Germinoblasten folgendermaßen:

1. auffallend heller, schwach anfärbbarer Kern von meist runder Form mit feinretikulärer bis verwaschener Chromatinstruktur
2. multiple, nicht immer sichtbare, farblose Nukleolen, die durch perinukleäre Chromatinverdichtungen scharf begrenzt erscheinen
3. ein schmales basophiles Protoplasma, das häufiger einige Vakuolen enthält.

Die Germinoblasten kommen in drei Größen vor (s.o.). Vom großen Germinoblasten unterscheiden sich die kleineren Formen im wesentlichen durch ihre geringere Größe. Außerdem sollen sie nur wenige oder keine Nukleolen aufweisen. Trotz der Einwände von MASSHOFF und FROSCH (1958) halten LENNERT (1961, 1966) und LEIBER (1961) es für sicher, daß die Germinoblasten zytologisch erkennbare Keimzentrumszellen sind, die ein Charakteristikum der hellen Zentren der Lymphfollikel darstellen.

4. Kernmessungen an Germinoblasten

Wie JAKOBJ (1925, 1931, 1935) durch seine Untersuchungen zeigen konnte, erfolgen Wachstum und Teilung der Zellen in bestimmten Volumenrelationen. Die in jüngerer Zeit an Lymphozytenvorstufen verschiedentlich durchgeführten Kernmessungen hatten hauptsächlich das Ziel, durch Bestimmung der Kernvolumina eine weitere, mathematisch exakte Grundlage für die Nomenklatur zu schaffen.

Bei diesen Messungen fand GRUNDMANN (1957, 1958 a, 1959 b) unter den sechs morphologisch definierten Reifungsstadien vier, deren Kernvolumina dem JAKOBJschen Gesetz folgten, während die anderen beiden mit je einer dieser isometrisch waren. Wie der Verfasser ausführte, scheint bei diesen beiden Entwicklungsstadien die eigentliche Reifung im Vordergrund zu stehen.

Die Kernmessungen von LENNERT und REMMELE (1958) an Lymphknoten des Menschen bei verschiedenen Krankheiten ergaben sechs dem JAKOBJschen Gesetz folgende Kernklassen: basophile Stammzellen (K 4), große Germinoblasten (K 2), mittlere Germinoblasten (K 1), kleine Germinoblasten (K 1/2), junge Lymphozyten (K 1/4) und alte Lymphozyten (K 1/8). Diese oben genannten Kernklassen konnte GRUNDMANN (1958 a) nur bei gesonderter Messung der kleinen und großen Kerne jeder Reifungsform feststellen. Kurven ohne klare Verdoppelungsrhythmik entstanden beim Messen aller Zellen einer Reifungsgruppe.
Für die Germinoblasten des Schnittes gibt LENNERT (1961) folgende vier Kernklassen mit den entsprechenden Volumina an:

Klasse K 4 ($\sim 576 \mu^3$) = Riesengerminoblast oder basophile Stammzelle

Klasse K 2 ($\sim 288 \mu^3$) = großer Germinoblast

Klasse K 1 ($\sim 144 \mu^3$) = mittlerer Germinoblast

Klasse K 1/2 ($\sim 72 \mu^3$) = kleiner Germinoblast

Während die Klasse K 1 bei den Messungen am häufigsten vorkam, war die Klasse K 4 am seltensten anzutreffen. Nach den Ausführungen des Autors traten die Riesengerminoblasten nur bei besonders lebhafter Lymphopoese in den Follikeln auf. Auch die großen Germinoblasten sah er als Ausdruck einer relativ starken Neubildung an. Da die Messungen keine Zwischenklassen ergaben, stellte der Autor eine Antikörperbildung durch die Keimzentrumszellen weiterhin in Frage.
Der Vollständigkeit halber seien auch die beiden letzten Entwicklungsstadien mit den entsprechenden Volumina kurz angeführt:

Klasse K 1/4 ($\sim 36 \mu^3$) = junger (großer) Lymphozyt

Klasse K 1/8 ($\sim 18 \mu^3$) = alter (kleiner, reifer) Lymphozyt.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Eine Aufgabe dieser Arbeit war es, das Vorkommen von Germinoblasten beim Hund nachzuweisen und deren morphologische Eigenständigkeit im zytologischen Ausstrich aufzuzeigen. Aus diesem Grunde wurde versucht, experimentell Follikelhyperplasien zu erzeugen, um gezielt Zellen aus den vergrößerten Follikeln entnehmen zu können.

1. Material

Für die Untersuchungen fanden ein- bis fünfjährige, klinisch gesunde Hunde Verwendung. Bei den insgesamt zehn Hunden handelte es sich um sieben Schäferhund-Bastarde und drei Beagles. Da eine Follikelproliferation sich auch in einer Größenzunahme der Lymphknoten ausdrückt, wurden solche Lymphknoten zur Untersuchung herangezogen, die aufgrund ihrer Lokalisation eine Feststellung der Größe durch Palpation zuließen. Der tägliche Palpationsbefund bestimmte im wesentlichen den Exstirpationszeitpunkt.

2. Methode

Da die Versuchsanordnung zur Erzeugung der Follikelhyperplasie verschiedentlich geändert werden mußte, die Untersuchungsmethode der exstirpierten Lymphknoten aber stets gleich blieb, wird diese zu Anfang beschrieben, während die Versuchsanordnungen und ihre Befunde gesondert aufgeführt werden.

a) Untersuchung der Lymphknoten

Die Lymphknoten wurden jeweils unmittelbar nach der Exstirpation in ihrer Längsrichtung aufgeschnitten. Dann wurde Material entnommen und Ausstriche davon angefertigt. Die Entnahme des Materials erfolgte anfangs aus den Randpartien der Lymphknoten, da sich Sekundärknötchen bei geringer oder beginnender Hyperplasie vorwiegend in der Lymphknotenrinde finden. Bei gut ausgebildeter Follikelhyperplasie konnte eine gezielte Material-

entnahme aus den Bezirken vorgenommen werden, die als runde, über die Schnittfläche hervorquellende Erhabenheiten makroskopisch als Follikel zu erkennen waren. Die beste Möglichkeit, Material gezielt zu entnehmen, ergab sich schließlich nach Tuscheinjektion einige Tage vor der Exstirpation des Lymphknotens. Die Injektion von Tusche erwies sich dabei als eine ausgezeichnete Möglichkeit, die Follikel makroskopisch sichtbar zu machen. Unmittelbar nach Fertigstellung der Ausstriche wurden die verbleibenden Lymphknotenteile in 7%iges Formalin verbracht und später im Institut für Veterinär-Pathologie histologisch auf die Existenz von Sekundärfollikeln untersucht. Von den Ausstrichen wurde die eine Hälfte 24 Stunden, die andere Hälfte 48 Stunden luftgetrocknet und dann nach PAPPENHEIM gefärbt.

b) Versuchsordnung I

In Anlehnung an die Versuchsanordnung von GRUNDMANN (1958 b) wurde bei zwei Hunden ein entzündlicher Reiz nach der Methode des "Granulombeutels" von SELYE (1953) gesetzt: nach Sedation mit Megaphen-Polamivet wurden mit einer Injektionsnadel ca. 30 ml Luft unter die Haut geblasen. Bei einem Tier erfolgte dies an der linken Hinterextremität (Hd. Nr. 1) im Einzugsbereich des Popliteallymphknotens, bei dem anderen (Hd. Nr. 2) an der linken Vorderextremität im Einzugsbereich des Ln. cervicalis superficialis. Anschließend wurde 1,0 ml einer 0,5%igen Mischung von Krotonöl in Olivenöl in die Luftblase injiziert.

Hund Nr. 1 zeigte am Tage darauf eine starke Schwellung im Injektionsbereich, die sich an den folgenden beiden Tagen noch vergrößerte und am vierten Tag am mittleren Unterschenkel nach außen durchbrach. Das Krotonöl hatte hier zu einer Nekrose der Haut und des subkutanen Gewebes geführt.

Unter Megaphen-Polamivet-Sedation und Extraduralanästhesie wurde der linke Popliteallymphknoten zehn Tage p.i. exstirpiert.

Da eine Keimbesiedlung der Lufttasche durch die Injektion bei Hund Nr. 1 nicht auszuschließen war, bekam der Hund Nr. 2 unmittelbar nach der 0,5%igen Krotonölmischung zusätzlich ein Antibiotikum (Penicillin-Streptomycin) in die Luftblase appliziert. Die auftretende Schwellung war relativ gering, so daß nach 48 Stunden eine erneute Injektion vorgenommen wurde. Der Hund erhielt 0,5 ml einer 3%igen Mischung von Krotonöl in Olivenöl und unmittelbar darauf wiederum ein Antibiotikum subkutan in den Schwellungsbreich. Da die Schwellung recht derb war, ließ sich nicht sicher feststellen, ob noch eine Lufttasche unter der Haut vorhanden war. Die Schwellung, die in den folgenden Tagen stark zunahm, begann sich nach einer Woche allmählich wieder zurückzubilden.
Die Exstirpation des Ln. cervicalis superficialis der gleichen Seite erfolgte drei Wochen nach der letzten Injektion unter Megaphen-Polamivet-Sedation.

Befunde

Bei der Untersuchung der zytologischen Ausstriche stand eine erhebliche Proliferation der großen lymphoiden Retikulumzellen mit Differenzierung in Makrophagen im Vordergrund. Diese Makrophagen hatten Fetttröpfchen in großer Zahl gespeichert und zeigten so das typische Bild der Lipophagen. Eine Besonderheit war die ausgeprägte Anisozytose und Anisokaryose und häufige Mehrkernigkeit dieser retikulären Elemente. Die Veränderungen waren stellenweise so hochgradig, daß die mehrkernigen Makrophagen mit ihren unterschiedlich großen Kernen, der grobretikulären Chromatinstruktur und den riesigen bizarren Nukleolen Kriterien der Malignität aufwiesen und an die STERNBERGschen Riesenzellen des Menschen bei der Lymphogranulomatose erinnerten. Einige dieser Zellkerne hatten einen Durchmesser von mehr als 40 μ. Auch diese retikulären Riesenzellen wiesen phagozytierte Fettpartikelchen auf, die sich in der PAPPENHEIM-Färbung als optisch leere Vakuolen darstellten. Zellbezirke mit Germinoblasten konnten dagegen nicht aufgefunden werden.

c) Versuchsanordnung II

Nachdem bei der Versuchsanordnung I im Ausstrich keine Germinoblasten nachgewiesen werden konnten, wurde versucht, diese durch wiederholte Antigeninjektion zu erzeugen. Als Antigen fand eine mit β-haemolytischen Staphylokokken beimpfte Bouillon Verwendung, die 24 Stunden bebrütet war. Vor der Applikation wurde die Bouillon 120 Minuten im Wasserbad bei 60°C erhitzt, um eine Abtötung der Keime zu erreichen (vgl. EHRICH 1931). Von dieser Tot-Bouillon erhielt Hund Nr. 3 in zweitägigem Abstand 0,2 - 3,0 ml in steigender Dosierung unterhalb und in der Mitte des rechten Unterkieferastes in Form einer subkutanen Injektion. Als auch nach 16 Tagen (sieben Applikationen) palpatorisch keine merkliche Vergrößerung des Lymphknotens festzustellen war, wurde Bouillon der gleichen, anfangs benutzten Charge, die während dieser Zeit im Kühlschrank aufbewahrt worden war, ohne vorherige Erhitzung appliziert. Die Dosis betrug bei der ersten Injektion 1,0 ml, bei den anschließenden fünf in dreitägigem Abstand erfolgenden Injektionen je 2,0 ml. Die Palpation ergab nach 18 Tagen einen etwa um das doppelte vergrößerten Ln. mandibularis der gleichen Seite. Aus diesem Grunde erfolgte am 19. Tag die Exstirpation des Lymphknotens unter Sedation.

Befunde

In den Ausstrichen waren Germinoblasten wesentlich häufiger vorhanden als dies sonst in Ausstrichen von "ruhenden Lymphknoten" des Hundes der Fall ist (SAAR 1971). Der histologische Befund ergab zahlreiche große Sekundärfollikel, in denen Mitosen gehäuft vorkamen.

Da der zweite Teil der Versuchsanordnung II den gewünschten Erfolg gebracht hatte, wurde bei den nächsten drei Hunden nach dem gleichen Prinzip verfahren.
Von einer neuen Bouillon β-haemolytischer Staphylokokken,

die zur Minderung ihres Keimgehaltes 14 Tage lang im Kühlschrank stand, bekamen zwei Hunde (Nr. 4 und Nr. 5) am gleichen Tag 2,0 ml subkutan am linken Unterkiefer appliziert. 24 Stunden später wiesen beide Tiere im Injektionsbereich eine Schwellung auf, die sich in den folgenden zwei Tagen auf den gesamten Bereich des Fanges bis hin zum Hals ausdehnte. Seit dem sechsten Tag zeigten sich bei beiden Hunden ausgebreitete Nekrosen der Haut. Trotz intensiver therapeutischer Bemühungen starb ein Hund nach sieben Tagen. Bei dem überlebenden Tier demarkierte sich die Haut von den Lefzen, über den Kehlbereich bis hin zur Apertura thoracis.
Drei Wochen später erhielt ein weiterer Hund (Nr. 6) die halbe Dosis (1,0 ml) derselben im Kühlschrank gelagerten Bouillon an der gleichen Stelle subkutan injiziert. Dabei trat ebenfalls eine starke Schwellung auf, die nach vier Tagen zur Abszedierung führte.

Dieser Teil der Versuchsanordnung II mußte als fehlgeschlagen angesehen werden. Die Lymphknoten wurden daher weder zytologisch noch histologisch untersucht.

d) Versuchsanordnung III

Bei dieser Versuchsanordnung verwendeten wir bei vier Hunden als Antigen gleichfalls eine mit β-haemolytischen Staphylokokken beimpfte, 24 Stunden bebrütete und anschließend 14 Tage im Kühlschrank aufbewahrte Bouillon. Nach den vorausgegangenen Erfahrungen wurde die Anfangsdosis jetzt allerdings erheblich herabgesetzt. Sie betrug in zwei Fällen (Nr. 7 und Nr. 10) je 0,1 ml, in den anderen beiden Fällen (Nr. 8 und Nr. 9) je 0,2 ml. Die subkutanen Applikationen wurden in zwei- bis dreitägigen Abständen unterhalb und in der Mitte des rechten bzw. linken Unterkieferastes wiederholt. Der Zeitpunkt der Injektionen und die allmähliche Erhöhung der Dosis waren abhängig von auftretenden Schwellungen. Während die Hunde Nr. 7 und 10 als Höchstdosis - bedingt durch

leichte Schwellungen - nur 0,2 ml Bouillon erhielten, konnte die Höchstdosis bei Hund Nr. 8 auf 1,0 ml und bei Hund Nr. 9 auf 0,5 ml Bouillon gesteigert werden, ohne daß es - wie bei den Hunden Nr. 4, 5 und 6 - zu Störungen des Allgemeinbefindens kam. Nachdem die Palpation mindestens eine Lymphknotenvergrößerung um das zwei- bis dreifache der Ausgangslage ergeben hatte, wurde den Hunden Nr. 8 und 9 als letzte Injektion an der oben genannten Stelle Chinatusche subkutan injiziert. Dabei handelte es sich um feste Tuschesubstanz, die in feinste Partikel zerrieben und in Aqua dest. suspendiert war. Davon erhielten Hund Nr. 8 0,5 ml und Hund Nr. 9 1,5 ml. Hund Nr. 10 erhielt statt dessen 1,0 ml handelsübliche "Pelikan"-Ausziehtusche. Diese führte zu einer beträchtlichen Schwellung im Kehlgangsbereich, die eine Lymphknotenexstirpation erst nach fünf Tagen zuließ, während diese sonst zwei bis drei Tage nach der Tuscheinjektion erfolgte. Die Exstirpation des mandibulären Lymphknotens der entsprechenden Seite wurde bei Hund Nr. 7 - ohne vorhergehende Tuscheinjektion - 21 Tage nach der ersten Injektion durchgeführt. Sie erfolgte bei Hund Nr. 8 nach 23 Tagen, bei Hund Nr. 9 nach 37 Tagen und bei Hund Nr. 10 nach 24 Tagen.

Befunde

Die Schnittflächen der Lymphknoten zeigten bei den Hunden Nr. 7, 8 und 9 makroskopisch etwa das gleiche Bild. Auf das Vorhandensein von Sekundärknötchen konnte lediglich aus den über die Schnittflächen hervorquellenden Erhabenheiten geschlossen werden. Eine Tuscheablagerung war in keinem Lymphknoten zu erkennen. Makroskopisch deutlich sichtbar stellten sich die Sekundärknötchen dagegen bei Hund Nr. 10 dar, da sich in diesem Fall die Ausziehtusche im übrigen lymphatischen Gewebe, nicht aber in den Follikeln abgelagert hatte (Abb. 1 u. 2).

Abb. 1 u. 2 Hund Nr. 10. Ln. mandibularis, Schnittfläche. Deutlich sichtbare, durch Tuscheinfiltration vom angrenzenden Gewebe abgesetzte, vergrößerte Follikel

Die histologische Untersuchung bestätigte in allen vier Fällen das sehr zahlreiche Vorkommen großer Sekundärfollikel (Abb. 3), die teilweise schon makroskopisch zu erkennen waren. Die Keimzone dieser im histologischen Schnitt meist rund erscheinenden Follikel, hatte einen durchschnittlichen Durchmesser von 200 - 350 µ, maximal bis 500 µ. Sie war umgeben von einer unregelmäßig breiten Zone (10 - 120 µ) ausgereifter Lymphozyten.

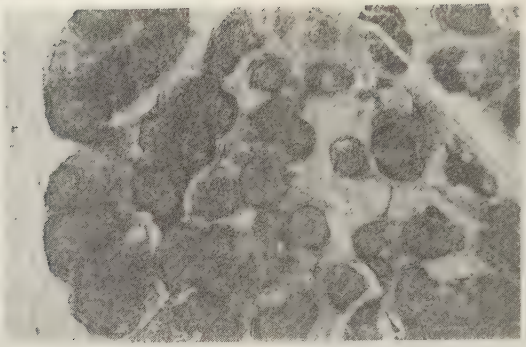
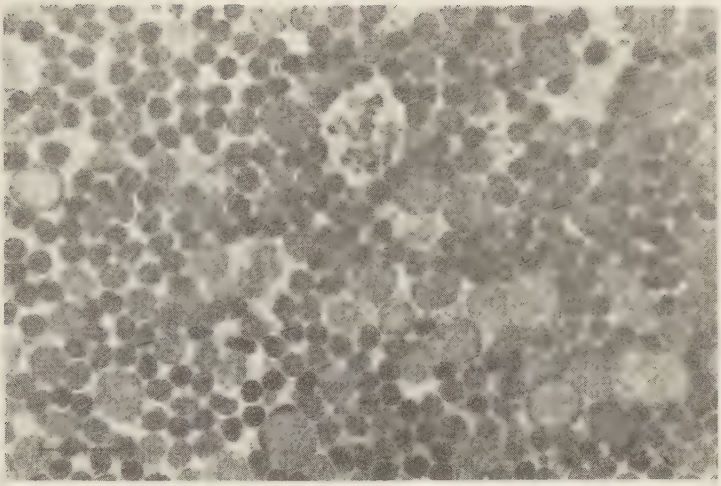


Abb. 3 Hund Nr. 10. Ln. mandibularis. Histologischer Schnitt. Stark vergrößerte Sekundärfollikel mit großer Keimzone und schmalem Lymphozytensaum

Die anschließend beschriebene Morphologie der Germinoblasten stützt sich allein auf Ausstriche des Falles 10, bei dem die Entnahme des Zellmaterials gezielt aus den vergrößerten Follikeln möglich war. Dadurch wurden mit Sicherheit nur aus den Keimzentren stammende Zellen ausgestrichen. Außer einigen Kerntrümmermakrophagen und Mitosen, die für die Keimzentren typisch sind, alten und jungen Lymphozyten und ganz vereinzelten Plasmazellen, wurde das Bild von Germinoblasten verschiedener Größenordnungen beherrscht (Abb. 4).



bb. 4 Hund Nr. 10. Ln. mandibularis. Ausstrich von gezielt aus den Follikeln entnommenem Gewebe. Zahlreiche große, mittlere und kleine Germinoblasten, große und kleine Lymphozyten. Links von Bildmitte Germinoblastenmitose, oberhalb von Bildmitte Kerntrümmermakrophage. Bei 4h basophile Stammzelle.
An Stelle von Vergrößerungsangaben ist in die Abbildung ein Maßstab von 20µ eingetragen.

Im einzelen zeigen die basophilen abgelösten Zellen (basophile Stammzelle und Germinoblasten) und Lymphozyten der Keimzentren des Hundes im Ausstrich folgende morphologische Kriterien:

B a s o p h i l e S t a m m z e l l e (Abb. 5 a, b, c)

Die basophilen Stammzellen sind von rundlicher bis plumpovaler Gestalt und besitzen große, annähernd zentral gelegene Kerne mit einem feinretikulären Chromatingerüst. In den Kernen sind meist drei bis fünf (ein bis sechs) außerordentlich große, häufig stark basophile Nukleolen zu erkennen,

die eine ovale, längliche oder gebogene Form aufweisen. Das Plasma ist relativ schmal und basophil. Es enthält meist kleine, multiple Vakuolen und erscheint scharf begrenzt. Die Plasmabasophilie ist recht unterschiedlich. Die Farbskala reicht dabei von dunkelblau bis graublau.
Die basophile Stammzelle ist nicht für die Sekundärknötchen spezifisch, sondern kommt vorwiegend in der Pulpa vor (LENNERT 1961). Eine Differenzierung dieser größten germinoblastischen Form von der basophilen Stammzelle der Pulpa ist im Ausstrich wegen der weitgehenden morphologischen Übereinstimmung nicht möglich. Im Schnitt ist diese Möglichkeit nur durch die Lokalisation gegeben, und die basophile Stammzelle der Follikel wird von LENNERT (1961) dann als "Riesengerminoblast" bezeichnet.

G r o ß e r G e r m i n o b l a s t (Abb. 5 d, e, f)

Der große Germinoblast ist gekennzeichnet durch einen bemerkenswert hellen, schwach gefärbten Kern von meist runder Form, dessen meist feinretikuläre Chromatinstruktur oft etwas "verwaschen" wirkt. Die drei bis sechs mittelgroßen, allerdings nicht immer sichtbaren und in der Regel wenig farbstoffaffinen Nukleolen sind durch perinukleoläre Chromatinverdichtungen deutlich abgegrenzt. Das basophile Zytoplasma ist relativ schmal und kann einige kleine Vakuolen enthalten.
Von der basophilen Stammzelle unterscheidet sich der große Germinoblast durch das schmalere Plasma, den meist mehr runden Kern und die helleren Nukleolen in einem auffallend hellen Kern mit "verwaschener" Chromatinstruktur.

M i t t l e r e r und k l e i n e r G e r m i n o b l a s t
(Abb. 5 g, h. i. k u. l, m, n, o, p)

Der mittlere und der kleine Germinoblast unterscheiden sich vom großen Germinoblasten im wesentlichen nur durch ihre geringere Größe. Bei ihnen ist die unscharfe Chromatinstruktur

besonders ausgeprägt. Während bei den mittleren Germinoblasten bis zu vier mittelgroße Nukleolen noch relativ deutlich zu erkennen sind, zeigen die kleinen Germinoblasten nur selten ein bis zwei, oft aber überhaupt keine Nukleolen mehr. Der basophile Plasmasaum wird zunehmend schmaler, ist aber in der Regel auch bei den kleinen Germinoblasten noch deutlich zu erkennen.

J u n g e r (großer) u n d a l t e r (kleiner, reifer) L y m p h o z y t (Abb. 5 q, r, s)

Der junge Lymphozyt besitzt einen runden Kern mit mäßig grobem, rotviolettem Chromatin. Nukleolen lassen sich im Kern bei der PAPPENHEIM-Färbung nur sehr selten feststellen. Das hellblaue Plasma ist sehr schmal und fehlt häufig.
Der alte Lymphozyt ist kleiner und weist einen noch dichteren, kaum durchsichtigen Kern von dunkelvioletter Farbe und sehr grober Chromatinstruktur auf. Das Plasma ist blaß-graublau und oft nicht zu erkennen.

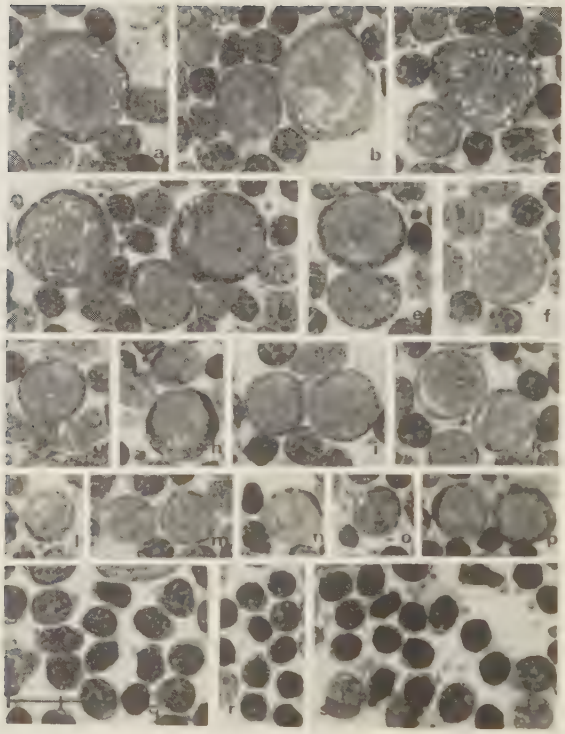


Abb. 5 Hund Nr. 10. Ln. mandibularis. Ausstrichpräparat. a, b u. c basophile Stammzellen; d, e u. f große Germinoblasten; g, h, i u. k mittlere Germinoblasten, ebenfalls bei b, d u. e; l, m, n, o u. p, außerdem bei c kleine Germinoblasten; q vorwiegend junge, r u. s vornehmlich alte Lymphozyten.
An Stelle von Vergrößerungsangaben ist in die Abbildung ein Maßstab von 20 μ eingetragen.

e) K a r y o m e t r i e

Das zytologische Bild der einzelnen Ausstrichpräparate zeigte deutliche Größenunterschiede zwischen den einzelnen oben genannten morphologisch definierten Zellen. Um hier ein möglichst objektives Bild zu erhalten, wurden Kernmessungen an diesen durchgeführt. Dafür wurden nur Ausstriche des Falles 10 herangezogen, die ein möglichst einheitliches zytologisches Material gewährleisteten, das mit Sicherheit den Keimzentren entstammte. Von diesen Präparaten wurden mit Hilfe des Ultraphot II der Fa. CARL ZEISS 72 Mikrophotographien angefertigt (Planapo 40 - 1,3 Öl, Adox-Film KB 14, Grünfilter).

Die Größenbestimmung der Zellkerne wurde an den entsprechenden photographischen Vergrößerungen vorgenommen. Dazu wurde das Objektmikrometer gleichfalls photographiert, im gleichen Maßstab vergrößert und der Abstand der Teilstriche des Mikrometers (10 μ) in 10 Teilstriche zu je 1 μ unterteilt. Der so entstandene Maßstab wurde auf eine transparente Kunststoffolie übertragen, mit der eine schnelle und unkomplizierte Messung möglich war. Meßgenauigkeit war 1 Teilstrich (= 1 μ). Gemessen wurden jeweils der größte (D) und der darauf senkrecht stehende (d) Durchmesser. Das Kernvolumen wurde aus den Kerndurchmessern über die Formel des Rotationsellipsoides berechnet (größter Durchmesser D = Drehachse):

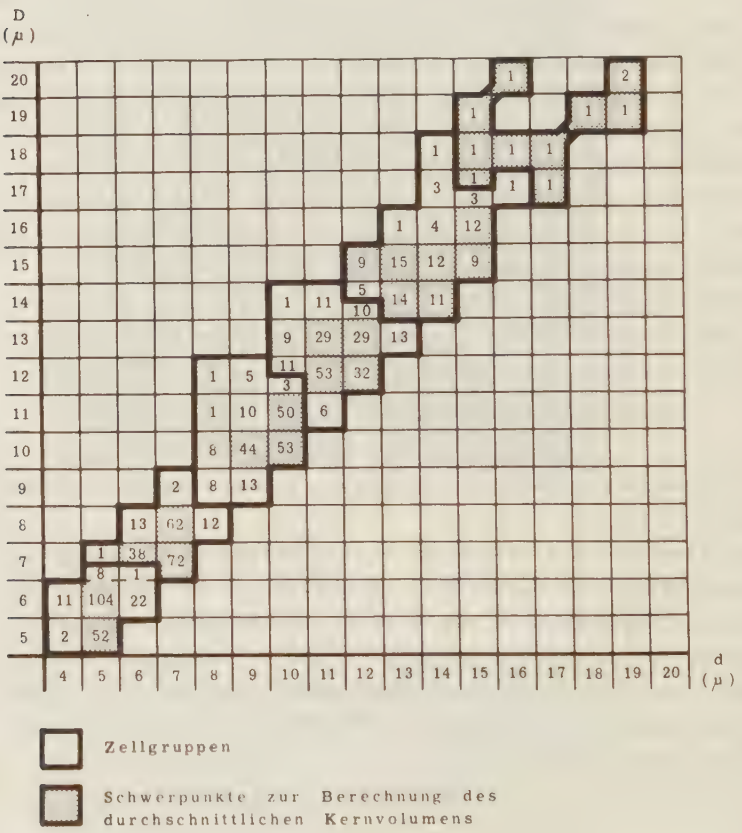
$$V = \frac{4}{3}\pi r^2 R = \frac{4}{3}\pi \left(\frac{d}{2}\right)^2 \frac{D}{2} = \frac{\pi}{6} d^2 D = 0{,}5236\ d^2 D$$

Da die Messung in μ erfolgte, ergab sich die Volumenangabe in μ^3.

Die Zellen für die Messungen wurden anfangs nach morphologischen Kriterien ausgewählt. Gemessen wurden 200 alte und 200 junge Lymphozyten, 200 kleine und 200 mittlere Germinoblasten, 100 große Germinoblasten und 11 basophile Stammzellen. Von den großen Germinoblasten waren nur wenig mehr, von den basophilen Stammzellen überhaupt nur diese 11 auf den 72 Photos vorhanden.

Die in Anlehnung an MIESPAGE (1968) gestaltete Tabelle erfaßt die Gesamtzahl aller gemessenen Kerne und gestattet gleichfalls, die festgestellten Kerndurchmesser und deren Häufigkeit abzulesen. Die morphologisch definierten Zellgruppen sind jeweils dick umrandet. Dabei stehen die alten Lymphozyten unten links und die basophilen Stammzellen oben rechts in der Tabelle. In den einzelnen Zellgruppen ergaben sich Schwerpunkte, die für die Berechnung des durchschnittlichen Kernvolumens der einzelnen Gruppen herangezogen wurden. Diese Schwerpunkte sind grau gezeichnet.

Tab.1



Folgende durchschnittliche Kernvolumina wurden berechnet:

alter	Lymphozyt	:	74 μ^3
junger	Lymphozyt	:	178 μ^3
kleiner	Germinoblast:		512 μ^3
mittlerer	Germinoblast:		850 μ^3
großer	Germinoblast:		1467 μ^3
basophile	Stammzelle	:	2832 μ^3

Da die jungen Lymphozyten auf den Photos am häufigsten vorkamen, wurde ihr Kernvolumen gleich 1 und die Kernvolumina der anderen Zellen ins Verhältnis gesetzt. Sie verhielten sich wie 0,4 : 1 : 2,7 : 4,7 : 8,2 : 15,6.
Nach der JAKOBJschen Regel von der Verdopplungs- bzw. Halbierungsrhythmik der Kernvolumina innerhalb einer Reifungsreihe wäre ein Verhältnis von 0,5 : 1 : 2 : 4 : 8 : 16 zu erwarten gewesen. Abweichungen davon waren besonders auffallend bei den kleinen und mittleren Germinoblasten. Da diese sich untereinander und von den großen Germinoblasten vorwiegend durch ihre geringere Größe unterschieden, waren subjektive Fehler bei der morphologischen Vorauswahl nicht auszuschließen. Außerdem wurden nur typische Zellen der einzelnen Zellgruppen gemessen, eventuell vorhandene Übergangsformen blieben unberücksichtigt.
Um größtmögliche Objektivität bei den Messungen zu gewährleisten, wurden anschließend von acht Photos alle Zellen - insgesamt 1332 - gemessen und diese gemeinsam mit den anfangs gemessenen Zellen in die Tabelle 2 eingetragen.
Die Berechnung der durchschnittlichen Kernvolumina erfolgte schematisch, wobei lediglich für die größeren Zellformen auch eine größere Streuung der Kerndurchmesser berücksichtigt wurde. Die Zellgrößen, die für die Berechnung herangezogen wurden, sind dick umrandet und entsprechen einer Zellgruppe.
Die Meßwerte für die großen Germinoblasten und die basophilen Stammzellen wurden aus Tabelle 1 übernommen, weil auf den Photos keine weiteren Zellen dieser Gruppen vorhan-

den waren. Aus Gründen der Schematisierung wurden fünf Zellen der großen Germinoblasten jetzt den mittleren Germinoblasten zugerechnet (D/d = 14/2), so daß die Gruppe der großen Germinoblasten in Tabelle 2 nur noch 95 Zellen umfaßt. Wie Tabelle 1 zeigt, waren diese Zellen bei der Berechnung des durchschnittlichen Kernvolumens der großen Germinoblasten ohnehin außer acht gelassen worden.

Tab. 2

D (µ)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
20													1			2	
19												1			1	1	
18											1	1	1	1			
17											3	3	1	1			
16										1	4	12					
15								1	9	15	12	9					
14							1	11	19	14	11						
13						1	10	40	47								
12					1	6	33	84	45								
11					1	23	98	22									
10			1	2	43	128	108										
9		1	3	20	96	36											
8		10	42	221	27												
7		77	305	189													
6	11	186	129														
5	2	57															
d (µ)																	

Zellgruppen (schematisch zusammengefaßt)

aus Tab. 1 übernommene Zellgruppen mit Schwerpunkten

Das ermittelte durchschnittliche Kernvolumen beträgt dann für

alte Lymphozyten : 79 μ^3
junge Lymphozyten : 160 μ^3
kleine Germinoblasten: 367 μ^3
mittlere Germinoblasten: 715 μ^3
(große Germinoblasten: 1467 μ^3) aus Tab. 1 übernommen
(basophile Stammzellen : 2832 μ^3) aus Tab. 1 übernommen

Laut Tabelle 2 sind die jungen Lymphozyten eindeutig die am häufigsten vorkommenden Zellen, die deshalb wieder als Bezugsgröße für einen Vergleich der Kernvolumina zueinander gewählt wurden. Daraus ergab sich ein Verhältnis von 0,5 : 1 : 2,3 : 4,5 : 9,2 : 17,7.

D. DISKUSSION

Die verschiedenen Versuchsanordnungen hatten das Ziel, in den Lymphknoten möglichst große und viele Sekundärknötchen zu erzeugen, damit aus diesen ganz gezielt und ausschließlich Material für zytologische Untersuchungen entnommen werden konnte. Dadurch sollte sichergestellt werden, daß in den Ausstrichen wirklich nur Zellen aus den Follikeln vorkommen.

Da GRUNDMANN (1958 b, c) nach Anwendung der "Granulomtaschentechnik" von SELYE (1953) bei Ratten eine deutliche Vergrößerung der Follikel beobachtet hatte, bedienten auch wir uns dieser Methode zur Erzeugung einer abakteriellen Entzündung. Dabei soll unter die Haut eingeführte Luft lange als ein "eiförmiges" Gebilde erhalten bleiben, und sekundär in diese Tasche eingeführte Reizmittel an der Grenze zwischen Luft und Gewebe eine Schicht von Granulationsgewebe hervorbringen. Dieses verhindert eine Resorption des Reizmittels weitgehend und gewährleistet damit eine kontinuierliche Reizwirkung über einen längeren Zeitraum. Wird dieser Reiz im Einzugsbereich eines Lymphknotens gesetzt, so führt er zu reaktiven Veränderungen im zugehörigen Lymphknoten. Während SELYE (1953) und GRUNDMANN (1958 b, c) diese Methode unter der Rückenhaut von Ratten mit Erfolg anwendeten, war in unseren Fällen beim Hund (Nr. 1 u. 2) ein Mißerfolg zu verzeichnen. Hier stellt sich die Frage, ob beim Hund die Reaktion auf Krotonöl heftiger ist als bei der Ratte. Möglicherweise war auch die injizierte Luftmenge für eine ausreichende Lufttaschenbildung zu gering, oder die Luft verteilte sich sofort in dem beim Hunde so lockeren Unterhautbindegewebe. Somit konnte das Krotonöl seine Reizwirkung ungehindert entfalten, da es zu keiner Bildung von schützendem Granulationsgewebe kam. Darüber hinaus wäre bei Hunden im Gegensatz zu Ratten eine schnellere Resorption unter der Haut befindlicher Luft denkbar, die durch die stärkere Motilität an den von uns gewählten Applikations-

orten ohnehin erhöht sein könnte. Eine Infektion der Lufttasche erscheint weniger wahrscheinlich, da auch nach lokaler antibiotischer Versorgung mit Penicillin-Streptomycin (Mycipen ®) bei Hund Nr. 2 eine erhebliche Schwellung im Injektionsbereich auftrat, ohne hier allerdings zur Abszedierung zu führen.

In den Ausstrichen zeigten sich in beiden Fällen Lymphknotenreaktionen in Form einer Proliferation retikulärer Elemente mit Differenzierung in Makrophagen, jedoch keine Germinoblasten.

Bei der Versuchsanordnung II wurde anfangs nach dem Vorbild EHRICHS (1931) versucht, eine Proliferation der Keimzentren durch Verimpfen einer Tot-Bouillon in das tributäre Gebiet des Lymphknotens hervorzurufen. Als der Palpationsbefund nach sieben Injektionen noch keine merkliche Vergrößerung des Lymphknotens ergab, war dies Anlaß zur Applikation der gleichen Bouillon mit lebenden Keimen; denn RINGERTZ und ADAMSON (1950) hatten die stärkste Keimzentrumsreaktion nach wiederholter Injektion von Lebend-Bouillon beobachtet. In unseren Fällen (3 - 6) erzielten wir dadurch unterschiedliche Ergebnisse. Nur im Fall Nr. 3 konnte eine Follikelhyperplasie festgestellt werden, während bei den anderen drei Hunden schon die einmalige lokale Applikation der Lebend-Bouillon zu einer lokalen Infektion mit umschriebenen Nekrosen der Haut und Unterhaut und anschließender Demarkierung dieser Bezirke führte. Bei Hund Nr. 5 waren diese septischen Prozesse besonders ausgedehnt und können wohl als Todesursache angesehen werden.

In der Versuchsanordnung III verwendeten wir wiederum eine 24-Stunden bebrütete Lebend-Bouillon mit β-haemolytischen Staphylokokken. Nach den Erfahrungen der mißlungenen Versuche wurde die Anfangsdosis aber beträchtlich reduziert. Dies führte bei allen vier Hunden zu einer Follikelproliferation, die an den exstirpierten Lymphknoten schon makroskopisch zu erkennen war. Im Fall 10 gelang es schließlich, die Methode durch eine Tuscheinjektion zu verfeinern, inso-

fern als sich die Grenzen der Follikel jetzt deutlicher markierten. Histologisch konnte die Tusche nicht nachgewiesen werden.
Die Versuchsanordnung III mit einer abschließenden Injektion von Ausziehtusche ist somit für alle Aufgabenstellungen zu empfehlen, die eine Darstellung von Keimzentren oder eine gezielte Entnahme von Gewebsmaterial ausschließlich aus diesen verlangen.
In den Ausstrichen der Versuchsanordnung III waren Germinoblasten aller Größenordnungen vermehrt zu finden. Ihre besondere Morphologie - große basophile Zellen mit einem relativ blassen Kern - unterschied sie von anderen z.T. gleichgroßen Lymphknotenzellen deutlich (SAAR 1971). Es handelt sich um eine morphologisch eigenständige Zellgruppe, die für die Sekundärfollikel des Hundes spezifisch ist. Dies geht einmal daraus hervor, daß sie immer dann vermehrt in den Ausstrichen zu finden waren, wenn die histologische Untersuchung eine Follikelhyperplasie ergab; zum anderen waren die Germinoblasten besonders zahlreich in den Ausstrichpräparaten des Falles 10 zu beobachten, bei dem ausschließlich Material aus den Keimzentren ausgestrichen wurde.
Die Germinoblasten des Hundes sind morphologisch identisch mit denen des Menschen, die LENNERT (1957, 1958, 1961, 1964, 1966) als typisch für die Keimzentren der Lymphknoten des Menschen beschrieb. Sie entsprechen ferner den von ZETTERAEUS (1948) beim Kaninchen gefundenen "R-Zellen" und den von GRUNDMANN beschriebenen Vorformen der Follikellymphozyten bei der Ratte (1957, 1958 a) und beim Menschen (1959 b).
Aufgrund einer morphologischen Vorauswahl ergaben sich aus den Kernmessungen sechs Volumenklassen, die dem JAKOBJschen Gesetz annähernd entsprachen. Abweichungen davon waren auffallend bei den alten (kleinen) Lymphozyten und den kleinen und mittleren Germinoblasten, hielten sich aber noch in zulässigen Fehlergrenzen. Zusätzliche Kernmessungen, die die Morphologie nur insofern berücksichtigen, als keine Plasma-

zellen und Makrophagen mitgemessen wurden, erbrachten eine bessere Anpassung an die JAKOBJsche Regel. Ordnet man die Volumenklassen nach karyometrischen und zytomorphologischen Kriterien so, daß die basophile Stammzelle am Anfang und der alte Lymphozyt am Schluß der Reihe steht, dann ergibt sich folgendes Verhältnis der Kernvolumina zueinander:
17,7 : 9,2 : 4,5 : 2,3 : 1 : 0,5.
Hieraus ist eine Halbierung der Kernvolumina abzulesen, die der JAKOBJschen Regel entspricht. Es ist daraus zu schließen, daß es sich bei den Keimzentrumszellen des Hundes um eine Zellfamilie handelt, bei der die basophile Stammzelle als Mutterzelle der Germinoblasten aufzufassen ist.
Die Ergebnisse der Messungen decken sich mit denen von LENNERT und REMBELE (1958) und LENNERT (1961), die gleichfalls sechs dem JAKOBJschen Gesetz folgende Kernklassen für die Keimzentrumszellen des menschlichen Lymphknotens ermittelten. Dagegen konnten wir die Angaben GRUNDMANNS (1958 a), der bei der Messung aller Zellen bei der Ratte nur vier der Volumenrhythmik folgende Kernklassen fand, nicht bestätigen. Bei gesonderter Messung der einzelnen Kerntypen wurden aber auch von GRUNDMANN (1958 a) sechs Kernklassen festgestellt.
Ein Größenvergleich der von uns ermittelten Kernvolumina mit den von LENNERT (1961) gemachten Angaben ist nicht zulässig, da diese im Gegensatz zu unseren Messungen an histologischen Schnitten gewonnen wurden.
Die Kenntnis der Morphologie der Germinoblasten ist auch bei klinisch-diagnostischen Lymphknotenpunktionen von Bedeutung. So kann im Ausstrich aus dem Vorkommen von Bezirken mit zahlreichen Germinoblasten auf das Vorhandensein von Sekundärfollikeln geschlossen werden. Dies ist von SAAR (1971) auch bei Hunden für verschiedene Reaktionslagen des Lymphknotens gesehen worden. Außerdem beschreibt er bei den unreifzelligen Lymphadenosen einen Leukosezelltyp, der morphologisch mit den Germinoblasten übereinstimmt oder

doch weitgehende Ähnlichkeit besitzt. SAAR schließt daraus, daß bei solchen Fällen, die er als "Lymphadenosen vom Germinoblastentyp" bezeichnet, die leukotische Wucherung von den Keimzentren ausgeht. Hier ist allerdings auf das beim Menschen bekannte Krankheitsbild des großfollikulären Lymphoblastoms - einer malignen Proliferation der Keimzentren - hinzuweisen, das für den Hund unseres Wissens bisher nicht beschrieben ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der Arbeit wird ein Überblick über die Literatur gegeben, die sich mit der Funktion der Lymphfollikel, insbesondere im Hinblick auf die Lymphozytenbildung befaßt. Außerdem wird auf die Entwicklungsreihe und Morphologie der Zellen der Follikellymphozytopoese hingewiesen.
Anschließend werden drei Versuchsanordnungen beschrieben, die das Ziel hatten, im Lymphknoten des Hundes eine Follikelhyperplasie zu erzeugen, um eine gezielte Entnahme von Gewebsmaterial aus den Keimzentren vornehmen zu können.
Während sich die Versuchsanordnungen I ("Granulomtaschentechnik" von SELYE 1953) und II (Lebend-Bouillon β-haemolytischer Staphylokokken in relativ hohen Dosierungen) dafür als ungeeignet erwiesen, kann die Versuchsanordnung III (Lebend-Bouillon β-haemolytischer Staphylokokken in niederen Dosierungen und anschließender Tuscheinjektion) beim Hund als Methode für eine ähnliche Aufgabenstellung empfohlen werden.
In den Ausstrichpräparaten von Keimzentren werden Zellen beschrieben, die in Anlehnung an LENNERT (1957, 1961) als Germinoblasten bezeichnet werden. Sie besitzen eine eigenständige Morphologie und werden als spezifisch für die Keimzentren der Lymphknoten des Hundes angesehen.
Durch Bestimmung der Kernvolumina konnte die JAKOBJsche Regel auch für die Keimzentrumszellen des Hundes bestätigt werden. Dies wird als Stütze dafür aufgefaßt, daß es sich bei den Keimzentrumszellen um eine Zellfamilie handelt mit der basophilen Stammzelle als Mutterzelle und dem alten (kleinen) Lymphozyten als Endzelle.
Abschließend wird auf die Bedeutung der Kenntnis von der Morphologie der Germinoblasten für die klinische Zytodiagnostik am Lymphknoten hingewiesen.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBERTINI, A. v. (1932): Die "Flemming'schen Keimzentren". Beitr. path. Anat. 89, 183-227

2. ALBERTINI, A. v. (1936): Zur pathologischen Anatomie des lymphatischen Systems. Schweiz. med. Wschr. 66,305-310

3. ANDRÉ, R. u. B. DREYFUS (1952): La ponction ganglionnaire. Atlas de cytologie ganglionnaire pathologique. Expansion scientifique francaise

4. ASCHOFF, L. (1926): Die lymphatischen Organe. Beih. Med. Klin. H. 1, 1 - 22

5. BAECKGREN, A.W. (1965): Lymphatic leukosis in dogs. Vet. med. Diss. Royal Veterinary College Stockholm. Acta vet. Scand. 6, Suppl. 1 - 80

6. BAUER-SIČ, P. (1965): Zytodiagnostik als fruchtbarer Beitrag zur Klinik der Leukose und anderer bösartiger Geschwülste des Hundes. Zbl. Vet.Med., A, 12, 761-768

7. BEGEMANN, H. (1953): Klinische und experimentelle Beobachtungen am immunisierten Lymphknoten. H.F. Schulz, Freiburg

8. BEGEMANN H., H. RASTETTER u. U. FINK (1963): Zur Klassifizierung der Lymphozyten. Med. Klin. 58, 706-709

9. BLOOM, F., L.J. FLUSHING u. L.M. MEYER (1945): Malignant lymphoma (socalled leukemia) in dogs. Amer. J. Path. 21, 683-715

10. BUSCH, H. (1968): Karyometrische Untersuchungen an Zellen normaler und lymphoadenotischer Lymphknoten vom Hund. Vet. med. Diss. FU Berlin

11. CONGDON, C.C. u. M.G. HANNA jr. (1967): Comparison of existing theories on the function of germinal centers. In: Germinal centers in immune responses. Springer, Berlin-Heidelberg-New-York, S. 1-3

12. CONWAY, E.A. (1937): Cyclic changes in lymphatic nodules. Anat. Rec. 69, 487-513

13. DOWNEY, H. u. F. WEIDENREICH (1912): Über die Bildung der Lymphozyten in Lymphdrüsen und Milz. Arch. mikrosk. Anat. 80, 306-393

14. EHRICH, W.E. (1931): Studien über das lymphatische Gewebe mit besonderer Berücksichtigung der Lymphopoese und der Histogenese der Sekundärknötchen, ihres Schicksals und ihrer Bedeutung. Beitr. path. Anat. 86, 287-368

15. EHRICH, W.E. (1956): Die Entzündung. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie Band VII/1, S. 1-324 Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg

16. EVERETT, N.B., R.W. CAFFREY u. W.O. RIEKE (1964 a): Recirculation of lymphocytes. Ann. N.Y. Acad. Aci. 113, 887-897

17. EVERETT, N.B., R.W. CAFFREY u. W.O. RIEKE (1964 b): Radioautographic studies of the effect of irridation on the long-lived lymphocyte of the rat. Radiation Res. 21, 383-393

18. FISCHER, R. u. A. GROPP (1964): Cytologische und cytochemische Untersuchungen an normalen und leukämischen in vitro gezüchteten Blutzellen. Klin. Wschr. 42, 111-118

19. FLEMMING, W. (1885): Studien über Regeneration der Gewebe. Arch. mikrosk. Anat. 24, 50-91

20. FLIEDNER, T.M., M. KISSE, E.P. CRONKITE u. J.S. ROBERTSON (1964): Cell proliferation in germinal centers of the rat spleen. Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 578-594

21. FRIESS, A.E. (1969): Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an Lymphozyten. Zbl. Vet. Med., A, 16, 341-353

22. GLIMSTEDT, G. (1936): Bakterienfreie Meerschweinchen. Aufzucht, Lebensfähigkeit und Wachstum nebst Untersuchungen über das lymphatische Gewebe. Acta path. microbiol. Scand. Suppl. 30, 1-295

23. GOOD, R.A., R.D.A. PETERSON, J. FINSTAD u. A.E. GABRIELSEN (1965): Morphologic studies of the development of the lymphoid tissues. Ser. Haemat. 8, 1-28

24. GRÉGOIRE, C. (1931): Beitrag zur Frage der allergischen Veränderungen des lymphatischen bzw. lymphoiden Gewebes besonders in den Lymphknoten. Krkh.forschung 9, 97-124

25. GROPP, A. u. R. FISCHER (1964): Untersuchungen zur Phytohämagglutinin-stimulierten Umwandlung von menschlichen Blutlymphocyten zu blastenartigen Zellen. Virchows Arch. path. Anat. 338, 64-77

26. GRUNDMANN, E. (1957): Cytologische Untersuchungen über Formen und Orte der Lymphocytenreifung bei der Ratte. Verh. Dtsch. Ges. Path. 41, 261-266

27. GRUNDMANN, E. (1958 a): Die Bildung der Lymphocyten und Plasmazellen im lymphatischen Gewebe der Ratte. Beitr. path. Anat. 119, 217-262

28. GRUNDMANN, E. (1958 b): Experimentelle Untersuchungen über die funktionelle Cytomorphologie der lymphatischen Strukturen bei Entzündung sowie unter Cortison und DOCA Beitr. path. Anat. 119, 377-432

29. GRUNDMANN, E. (1958 c): Weitere Untersuchungen über die Lymphocytenbildung. Verh. Dtsch. Ges. Path. 42, 211-215

30. GRUNDMANN, E. (1959 a): Über die Unterscheidung von zwei Lymphocytentypen im Phasenkontrastmikroskop. Virchows Arch. path. Anat. 332, 17-24

31. GRUNDMANN, E. (1959 b): Der morphologische Nachweis von zwei Lymphocytensystemen beim Menschen. Klin. Wschr. 37, 941-946

32. GRUNDMANN, E. (1961): Zur Morphologie der Lymphocyten. Schweiz. med. Wschr. 91, 1186-1188

33. GRUNDMANN, E. u. H.P. HOBIK (1967): Histological and autoradiographic studies on the follicles of neonatally thymectomized mice. In: Germinal centers in immune responses. Springer, Berlin-Heidelberg-New-York, S. 349-355

34. HABERMEHL, K.H. (1969): Das lymphatische Gewebe - ein Stoffwechselapparat? Schweiz..Arch. Tierhk. 111, 501-517

35. HEIBERG, K.A. (1923): Das Aussehen und die Funktion der Keimzentren des adenoiden Gewebes. Virchows Arch. path. Anat. 240, 301-307

36. HEIBERG, K.A. (1924): Über das Aussehen des Tonsillengewebes und die quantitative Verteilung seiner Bestandteile bei und nach akuter Entzündung, sowie bei lebhaftester Funktion. Ferner Mitteilung einiger Fälle von Tonsillen mit auffällig kleinen Keimzentren. Virchows Arch. Anat. 253, 569-573

37. HEIBERG, K.A. (1924/25): Die Lymphozytenproduktion und die Leistungsmittelpunkte mit Phagozyten im adenoiden Gewebe, nebst Bemerkungen über die Verhältnisse in der Thymus. Anat. Anz. 59, 238-246

38. HEILMEYER, L. u. H. BAGELMANN (1955): Atlas der klinischen Hämatologie und Cytologie. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg

39. HELLMAN, T.J. (1921): Studien über das lymphoide Gewebe. Die Bedeutung der Sekundärfollikel. Beitr. path. Anat. 68, 333-363

40. HELLMAN, T.J. (1926): zit. nach LEIBER (1961)

41. HELLMAN, T.J. (1930): Lymphgefäße, Lymphknötchen und Lymphknoten.
In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Band VI/1, S. 233-396
Springer, Berlin

42. HELLMAN, T. u. G. WHITE (1930): Das Verhalten des lymphatischen Gewebes während eines Immunisierungsprozesses.
Virchows Arch. path. Anat. 278, 221-257

43. HINRICHSEN, K. (1962): Autoradiographische Untersuchungen über die Mitoseverteilung in lymphatischen Organen der Maus.
Verh. Anat. Ges. 58, 1962 = Anat.Anz. Erg.-H. 112, 128-137

44. HINRICHSEN, K. u. G. PRINDULL (1966): Zellbildung und Zelluntergang in Zentren sekundärer Lymphfollikel der Maus.
Zschr. Zellforsch. 69, 371-380

45. HORSTER, J.A. (1953) Zur Differentialdiagnose der Erkrankungen des lymphatischen Gewebes.
Die Medizinische S. 951-953

46. JAKOBJ, W. (1925): Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdopplung ihres Volumens.
Arch. Entw. mech. Organ. 106, 124-192

47. JAKOBJ, W. (1931): Volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen des Menschen und das allgemeine Problem der Zellkerngröße.
Verh. Anat. Ges. 40, 1931 = Anat.Anz. Erg.-H. 72, 236-245

48. JAKOBJ, W. (1935): Die Zellkerngröße beim Menschen. Ein Beitrag zur quantitativen Cytologie.
Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 38, 161-240

49. JECKELN, E. (1933): Experimentelle Untersuchungen über Umwandlungen und Bedeutung der Lymphknötchen.
Beitr. path. Anat. 90, 244-284

50. KLIMA, R. (1952): Grundlagen für eine Neuordnung der Hämatologie zellulärer Reaktionen im lymphatischen Apparat.
Wien. Zschr. inn. Med. 33, 125-135

51. KOBURG, E. (1963): Autoradiographische Untersuchungen über Zellneubildungsvorgänge in Lymphknoten und Tonsillen.
Arch. Ohr.-Nas.-Kehlk.hk. 182, 315-320

52. KOBURG, E. (1964): Zellproliferation und Zellkinetik im Tonsillengewebe.
Med. Habil.-Schrift, Düsseldorf

53. KOBURG, E. (1965): Untersuchungen zur Lymphocytopoese in den Tonsillen.
Arch. Ohr.-Nas.-Kehlk.hk. 185, II, 785-789

54. KÖBBERLING, G. (1965) Autoradiographische Untersuchungen über Zellursprung und Zellwanderung in lymphatischen Organen fetaler und neugeborener Mäuse.
Zschr. Zellforsch. 68, 631-659

55. LIEBER, B. (1961): Der menschliche Lymphknoten.
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin

56. LENNERT, K. (1957): Über die Erkennung von Keimzentrumszellen im Lymphknotenausstrich.
Klin. Wschr. 35, 1130-1132

57. LENNERT, K. (1961): Lymphknoten - Cytologie und Lymphadenitis.
In: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie.
Hrsg. von HENKE-LUBARSCH-ROESSLE-UEHLINGER, Band I, 3 A
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg

58. LENNERT, K. (1964): Pathologie der Halslymphknoten.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg

59. LENNERT, K. (1966): Bildung und Differenzierung der Blutzellen, insbesondere der Lymphocyten.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 163-213

60. LENNERT, K. u. W. REMMELE (1958): Karyometrische Untersuchungen an Lymphknotenzellen des Menschen. 1. Mitt.: Germinoblasten, Lymphoblasten und Lymphozyten. Acta haemat. 19, 99-113

61. LOPEZ CÁRDOZO, P. (1954): Clinical cytology. L. Stafleu, Leyden

62. LUDIN, H. (1955): Die Organpunktion in der klinischen Diagnostik. S. Karger, Basel

63. MASSHOFF, W. (1960): Über Reaktionen des lymphatischen Gewebes. Med. Welt, S. 1393-1403

64. MASSHOFF, W. u. P. RIECKERT (1954): Vergleichende Cyto- und Histologie am leistungsgesteigerten Lymphknoten. Frankf. Zschr. Path. 65, 43-61

65. MASSHOFF, W. u. B. FROSCH (1958): Untersuchungen über den Reaktionsablauf im Lymphknoten. Virchows Arch. path. Anat. 331, 666-695

66. MASSHOFF, W. u. A. VOGEL (1967): Zur Ortho- und Pathologie der Lymphknoten. Sandorama 1, 4-7

67. MAXIMOW, A. (1909): Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. Fol. haemat. 8, 125-134

68. MAXIMOW, A. (1927): Bindegewebe und blutbildende Gewebe. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Band II/1, S. 232-583 Springer, Berlin

69. MILLER, J.F.A.P. u. P. DUKOR (1964): zit. nach KOBERLING (1965)

70. MOESCHLIN, S. (1947): Die Milzpunktion. Benno Schwabe, Basel

71. MORALES PLEGUEZUELO, M. u. JIMENEZ DIAZ (1945): zit. nach LENNERT (1961)

72. NEUMANN, H. u. M. FEIGEN (1954): Die diagnostische Lymphknotenpunktion. Schlüter, Hannover

73. NIEPAGE, H. (1968): Kernmesseungen an Zellen des Lymphknotenpunktates von Hunden mit Lymphadenose. Zbl. Vet. Med., B, 15, 185-192

74. ORTEGA, L.G. u. R.C. MELLORS (1957): zit. nach LENNERT (1961)

75. OTTESEN, J. (1954): One the age of human white cells in peripheral blood. Acta physiol. Scand. 32, 75-93

76. RINGERTZ, N. u. C.A. ADALSON (1950): The lymph-node response to various antigens. Acta path. microbiol. Scand. Suppl. 86, 1-69

77. SAAR, CHR. (1967 a): Die Bedeutung von Lymphknotenveränderungen bei verschiedenen Krankheiten des Hundes. Ref. gehalten auf dem 12. Fortbildungslehrgang für prakt. Tierärzte am 11. Okt. 1967 in Berlin. Ref. in: Prakt. Tierarzt 49,261

78. SAAR, CHR. (1967 b): Die Morphologie der malignen Tumorzelle im Ausstrich. Cytodiagnostische Untersuchungen am Hund. Zbl. Vet. Med., A, 14, 302-314

79. SAAR, CHR. (1971): Beitrag zur klinischen Zytologie und Zytodiagnostik am Lymphknoten des Hundes. in Vorbereitung

80. SELYE, H. (1953): Use of "granuloma pouch" technic in the study of antiphlogistic corticoids. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 82, 328-333

81. SOVA, Z. u. J. KOLLÁK (1964): Einige neue Erkenntnisse über die sogenannte Lymphadenose mit leukozytären Blutbild beim Hund. Prakt. Tierarzt 45, 251-252 u. 299-301

82. SQUIRE, K.A. (1965): A cytologic study of malignant lymphoma in cattle, dogs and cats.
Amer. J. Vet. Res. 26, 97-107

83. STERNBERG, C. (1926): Die Lymphknoten.
In: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie.
Hrsg. von HENKE-LUBARSCH,
Band I/1, S. 249-348
Springer, Berlin

84. STOCKINGER, L. u. G. KELLNER (1952): Der Lymphozytennukleolus.
1. Mitt. Die Darstellung und Bedeutung des Nukleolus.
Wien. Zschr. inn. Med. 33, 135-141

85. STREICHER, H.J. u. ST. SANDKÜHLER (1953): Klinische Zytologie.
G. Thieme, Stuttgart

86. YOFFEY, J.M. (1964): Further problems of lymphocyte production.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 867-886

87. YOFFEY, J.M., G.A. HANKS u. L. KELLY (1958): Some problems of lymphocyte production.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 73, 47-78

88. YOFFEY, J.M., W.O. REINHARDT u. N.B. EVERETT (1961): The uptake of tritium-labelled thymidine by lymphoid tissue.
J. Anat. 95, 293-299

89. ZACH, J. (1957): Über den Wert der Lymphknotenpunktion.
Die Medizinische S. 193-194

90. ZETHRAEUS, ST. (1948): Secondary follicular cells in smear preparations.
Acta anat. 6, 264-282

Herrn Dr. Chr. Saar danke ich für die Überlassung des Themas und seine Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Für die Hilfe bei der Auswertung der karyometrischen Ergebnisse danke ich Herrn Prof. Dr. H. Niepage.

Den wissenschaftlichen Mitarbeitern im Institut für Veterinär-Pathologie gilt mein Dank für die histologische Untersuchung der Lymphknoten.

Fräulein G. Paulsdorf sei für die photographischen Arbeiten herzlich gedankt.

Lebenslauf

Als Sohn des landwirtschaftlichen Verwalters Heinz Henning und seiner Ehefrau Irmgard, geb.Klünder, wurde ich am 29. 12. 1939 in Neuruppin geboren.
Von September 1946 bis Juli 1954 besuchte ich die Zentralschule in Gransee. Ab August 1954 bis März 1959 war ich Schüler des Kant-Gymnasiums in Berlin-Spandau. Dort erhielt ich am 3. März 1959 das Zeugnis der Reife.
Im Sommersemester 1959 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin. Hier bestand ich dann auch die tierärztliche Vorprüfung am 24. April 1964 und die tierärztliche Staatsprüfung am 2. Februar 1967.
Nach meiner Praktikantenzeit an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere und der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten wurde mir mit Geltung vom 17. August 1967 meine Bestallung als Tierarzt erteilt.
Seit dem 1. September 1967 bin ich als wissenschaftlicher Assistent an der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten der Freien Universität Berlin tätig. In der Zeit vom 1. August 1968 bis zum 31. 1. 1969 arbeitete ich an der Außenstelle der Veterinärmedizinischen Fakultät in Ankara (Türkei).